

Année 2015

**LE DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DES
MYOCARDIOPATHIES CHEZ LES CARNIVORES
DOMESTIQUES**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le.....

par

Camille, Océane, Alison, Marie POISSONNIER

Née le 2 août 1990 à Villeneuve d'Ascq (Nord)

JURY

Président : Pr.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Marie ABITBOL

Maître de conférences à l'ENVA

Assesseur : Valérie CHETBOUL

Professeur à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MIALOT Jean-Paul, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard.

Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CHERMETTE René, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques.

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département par intérim : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

UNITE DE CARDIOLOGIE - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier UNITE DE CLINIQUE EQUINE - M. AUDIGIE Fabrice, Professeur - Mme BERTONI Lélia, Maître de conférences contractuel - Mme BOURZAC Céline, Maître de conférences contractuel - M. DENOIX Jean-Marie, Professeur - Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier * - Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier - Mme TRACHSEL Dagmar, Maître de conférences contractuel UNITE D'IMAGERIE MEDICALE - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier UNITE DE MEDECINE - M. AGUILAR Pablo, Praticien hospitalier - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences - M. BLOT Stéphane, Professeur* - M. CAMPOS Miguel, Maître de conférences associé - Mme FREICHE-LEGROS Valérie, Praticien hospitalier - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT - Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel - M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences - M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * - Mme MAENHOUDT Cindy, Praticien hospitalier - M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences - Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel	DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION - M. PARAGON Bernard, Professeur DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Mme RISCO CASTILLO Véronica, Maître de conférences (rattachée au DSBP) UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur* - Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE - M. PIGNON Charly, Praticien hospitalier
--	--

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur - Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier	UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE - Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences* - M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel - M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - Mme EL BAY Sarah, Praticien hospitalier UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, Professeur* - M. COURREAU Jean-François, Professeur - Mme DE PAULA-REIS Alline, Maître de conférences contractuel - Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur - Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences - M. PONTER Andrew, Professeur - Mme WOLGUST Valérie, Praticien hospitalier
--	--

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSE Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES - M. CHATEAU Henry, Maître de conférences* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences DISCIPLINE : ANGLAIS - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié UNITE DE BIOCHIMIE - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié DISCIPLINE : ETHOLOGIE - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur*	UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE - Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences* - M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur - Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel - M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE - Mme COMBRISSE Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Professeur * DISCIPLINE : VIROLOGIE - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences * DISCIPLINE : SCIENCES DE GESTION ET DE MANAGEMENT - Mme FOURNEL Christelle, Maître de conférences contractuel
---	---

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Professeur de l'Université de Créteil,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,
Hommage respectueux.

A Mme Marie Abitbol,

Maître de conférences en Génétique Médicale et Moléculaire à l'ENVA,
Pour sa gentillesse, sa disponibilité et son aide très précieuse dans la réalisation de cette thèse,
Pour m'avoir permis de découvrir une discipline passionnante, dans le cadre de ce travail de thèse, et d'appréhender l'importance de la collaboration entre différentes disciplines dans notre métier passionnant,
Mes sincères remerciements,

A Mme Valérie Chetboul,

Chef de l'Unité de Cardiologie d'Alfort et Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour son encadrement, sa gentillesse, ses conseils, et ses encouragements tout au long de cette thèse,
Pour ses conseils toujours précieux concernant mes choix professionnels, pour m'avoir transmis la passion d'une discipline, la cardiologie, et l'envie de toujours en savoir plus, découvrir, m'améliorer, et être exigeante envers moi-même,
Pour sa pédagogie, le partage des connaissances et surtout pour m'avoir donné la chance de progresser dans cette discipline passionnante et fascinante qu'est la cardiologie, au sein de l'Unité de Cardiologie d'Alfort en m'accueillant en stage pour cette année,
Mes sincères remerciements et ma plus profonde admiration,

A tous les membres de l'Unité de Cardiologie d'Alfort,

Aux Docteurs Vassiliki Gouni, Emilie Trehieu-Sechi, Charlotte Misbach, Amandine Petit, Cécile Damoiseaux, Vanessa Arqued-Soubeyran, Jonathan Bouvard,

Pour leur accueil, leur gentillesse, leur bonne humeur, leur aide et leurs conseils, notamment dans le cadre de cette thèse, et plus particulièrement au Docteur Charlotte Misbach, pour sa relecture, ses conseils, ses corrections, et toute son aide pour cette thèse,
Pour leurs réponses à mes questions, leurs topos en cardiologie, et tout ce que j'ai pu apprendre grâce à elles depuis que j'ai débuté mon stage à l'UCA,
Mes sincères remerciements,

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES TABLEAUX.....	9
LISTE DES ABREVIATIONS	11
Introduction	15
Préambule.....	17
Première partie : Stratégies d'identification de gènes chez les carnivores domestiques	19
1. La détermination du mode de transmission génétique d'une maladie par l'étude approfondie des pedigrees	20
1.1 Les différents modes de transmission	20
1.2. La détermination du mode d'hérédité des myocardiopathies chez les carnivores domestiques ..	22
1.2.1. Variabilité de l'expressivité et de la pénétrance.....	22
1.2.2. Limites posées par les études de pedigree	22
2. L'étude moléculaire et la mise en évidence d'un ou de plusieurs gènes ayant un allèle causant ou favorisant la maladie	23
2.1. Les marqueurs génétiques	23
2.2. L'approche « gène candidat »	24
2.3. Le clonage positionnel ou étude pangénomique : une approche très utilisée depuis 2005 chez le chien	25
2.3.1. Le recrutement des animaux	26
2.3.2. Le phénotypage : séparation des animaux étudiés en deux cohortes.....	26
2.3.3. L'extraction de l'ADN.....	27
2.3.4. Le génotypage : mise en évidence d'une région candidate.....	27
2.3.5. Restriction à la région candidate, inventaire des gènes, tri de ces gènes en fonction de leur pertinence ...	28
2.3.6. Le séquençage : mise en évidence de la mutation associée à la maladie	29
2.3.7. La validation de la mutation causale	29
Deuxième partie : Grandes classes de gènes impliqués dans le fonctionnement du cœur chez les carnivores domestiques	31
1. Structure de la cellule cardiaque et gènes impliqués	32
1.1. Les fibres musculaires	32
1.2. La structure du réticulum sarcoplasmique.....	32
1.3. Le cytosquelette extra-sarcomérique	37
2. Mécanisme de la contraction musculaire du cœur et gènes impliqués	43
2.1. Le mécanisme de conduction du potentiel électrique	43
2.2. L'interaction actine-myosine	46
2.3. La régulation par le complexe troponine-tropomyosine.....	48
2.4. Le rôle du Calcium	48

2.5. Les autres facteurs de régulation.....	50
3. Pathogenèse des myocardiopathies primaires chez l'homme.....	53
3.1. Pathogenèse de la myocardiopathie hypertrophique chez l'homme.....	53
3.1.1. Physiopathologie de la myocardiopathie hypertrophique.....	53
3.1.2. L'origine génétique de la myocardiopathie hypertrophique chez l'homme.....	54
3.2. Pathogenèse de la myocardiopathie dilatée chez l'homme.....	57
3.2.1. Physiopathologie de la myocardiopathie dilatée.....	57
3.2.2. Origine génétique de la myocardiopathie dilatée chez l'homme.....	57
3.3. Pathogenèse de la myocardiopathie arythmogène droite chez l'homme.....	59
3.4. Pathogenèse de la myocardiopathie restrictive chez l'Homme.....	60

Troisième partie : État actuel des recherches concernant le déterminisme génétique des myocardiopathies chez les carnivores domestiques.....61

1. La myocardiopathie arythmogène droite.....	62
1.1. Présentation générale chez le Boxer.....	62
1.2. Déterminisme génétique.....	67
2. La myocardiopathie dilatée.....	72
2.1. Présentation générale de la myocardiopathie dilatée.....	72
2.2. Spécificités et déterminisme génétique de la myocardiopathie dilatée chez différentes races.....	79
2.2.2. La myocardiopathie dilatée chez le Doberman.....	80
2.2.3. La myocardiopathie dilatée chez le Dogue Allemand.....	88
2.2.4. La myocardiopathie dilatée chez le Lévrier Irlandais.....	92
2.2.5. La myocardiopathie dilatée chez le chien d'Eau Portugais.....	94
2.2.6. La myocardiopathie dilatée chez le Terre-Neuve.....	96
3. La myocardiopathie hypertrophique.....	98
3.1. Présentation générale de la myocardiopathie hypertrophique.....	98
3.2. Spécificités et déterminisme génétique de la myocardiopathie hypertrophique chez différentes races.....	103
3.2.1. La myocardiopathie hypertrophique chez le Maine Coon.....	103
3.2.2. La myocardiopathie hypertrophique chez le Ragdoll.....	110
3.2.3. La myocardiopathie hypertrophique chez le Sphynx.....	114
3.2.4. La myocardiopathie hypertrophique chez le British Shorthair.....	116
3.2.5. La myocardiopathie hypertrophique chez l'American Shorthair.....	117
3.2.6. La myocardiopathie hypertrophique chez le Persan.....	118
3.2.7. La myocardiopathie hypertrophique chez le chat européen.....	119

Quatrième partie : Application des découvertes à l'élevage canin et félin..... 121

1. Les tests de dépistage.....	122
1.1. Le processus de développement d'un test génétique et les principes généraux des tests.....	122
1.1.1. Le développement d'un test génétique.....	122
1.1.2. Différents types de tests.....	124
1.1.3. Réalisation pratique d'un test génétique.....	124
1.2. Chez le Boxer.....	124
1.3. Chez le Doberman.....	125
1.4. Chez le chien d'Eau Portugais.....	125
1.5. Chez le Maine Coon.....	125
1.6. Chez le Ragdoll.....	126
1.7. Pertinence et limites de ces tests.....	126
2. Les stratégies d'élevage concernant les cardiopathies à déterminisme génétique.....	127
2.1 Généralités.....	127
2.2 Recommandations spécifiques de race pour les myocardiopathies.....	133
2.2.1. Le Maine Coon et le Ragdoll.....	133
2.2.2. Le Boxer.....	134
2.2.3. Le Doberman et le Terre-Neuve.....	134
2.2.4. Le Dogue Allemand.....	135

2.2.5. Le Lévrier Irlandais.....	136
2.2.6. Le chien d'Eau Portugais.....	136
2.3. Conseil en élevage et clubs de races	136

Cinquième partie : Le chien, un excellent modèle pour l'étude des myocardiopathies

héréditaires humaines ?.....	139
1. Un modèle pour l'identification de nouveaux loci chez l'homme	140
1.1. Le génome du chien	140
1.2. Le chat.....	142
2. Un modèle pour les thérapies géniques chez l'homme	142
2.1. Principe de la thérapie génique	142
2.1.1. Objectifs.....	142
2.1.2. Description de la technique	143
2.2. L'application de la thérapie génique aux myocardiopathies	144

Conclusion.....	147
------------------------	------------

BIBLIOGRAPHIE	149
----------------------------	------------

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Manhattan Plot obtenu lors d'une étude « cas-témoins » chez le Cavalier King Charles, mettant en évidence l'association significative de marqueurs situés sur le chromosome 7 avec une maladie appelée « episodic falling ».....	28
Figure 2 : Électrophorégramme représentant une partie de la séquence du gène canin codant la striatine.....	29
Figure 3 : Représentation schématique de l'ultrastructure globale d'un sarcomère et de ses différents composants.....	33
Figure 4 : Schématisation d'un disque Z et des protéines qui lui sont associées.....	34
Figure 5 : Représentation schématique d'une jonction gap.....	39
Figure 6 : Représentation schématique du fonctionnement moléculaire au sein de la cellule musculaire cardiaque et protéines impliquées.....	40
Figure 7 : Schématisation des différentes protéines impliquées dans la conduction du signal électrique cardiaque ainsi que des potentiels d'action membranaires.....	44
Figure 8 : Schématisation des modifications du potentiel d'action suite à la mutation de certains gènes codant pour les canaux ioniques : intervalle PR allongé et intervalle QT allongé...	46
Figure 9 : Schématisation des différentes étapes du cycle de contraction cardiaque et des protéines impliquées.....	47
Figure 10 : Cycle du calcium lors de la contraction des myocytes.....	50
Figure 11 : Schématisation de la localisation des principales protéines sarcomériques pour lesquelles la mutation du gène qui les code est à l'origine de la myocardiopathie hypertrophique chez l'homme.....	56
Figure 12 : Chien de race Boxer.....	62
Figure 13 : Mise en évidence d'épisodes d'extrasystoles ventriculaires droites à l'examen Holter chez un chien Boxer mâle de 5 ans présentant des épisodes de syncopes et d'insuffisance à l'effort.....	64
Figure 14 : Coupes histologiques de la paroi ventriculaire droite et du septum interventriculaire d'un Boxer atteint de myocardiopathie arythmogène droite.....	66
Figure 15 : Pedigree de trois lignées américaines de chiens de race Boxer dans lesquelles ségrège la myocardiopathie arythmogène droite.....	67
Figure 16 : Résultats de l'étude de type Genome Wide Association Study réalisée chez le Boxer pour l'analyse de la myocardiopathie arythmogène droite.....	68

Figure 17 : Cartographie fine de la région mise en évidence sur le chromosome 17 représentant l'association de chacune des régions de ce chromosome avec la myocardiopathie arythmogène droite.....	68
Figure 18 : Mise en évidence d'une délétion de 8 paires de bases touchant la zone 3' non traduite du gène canin codant la striatine.....	69
Figure 19 : Modification de la structure secondaire de la protéine striatine au niveau de la zone correspondant à la région du gène <i>STRN</i> touchée par la mutation.....	69
Figure 20 : Étude d'expression de l'ARNm codant pour la protéine striatine chez deux chiens non-Boxer, et chez quatre Boxers atteints de myocardiopathie arythmogène droite....	70
Figure 21 : Résultats du Western Blot visant à analyser la quantité de striatine dans des sections myocardiques du ventricule droit chez deux chiens non-Boxer sains, deux chiens de race Boxer hétérozygotes pour la mutation du gène <i>STRN</i> , et deux chiens de race Boxer homozygotes pour la mutation du gène <i>STRN</i> , et calcul de la quantité de protéine par rapport aux chiens contrôle homozygotes sains non Boxer.....	70
Figure 22 : Coupe temps-mouvement petit axe transventriculaire obtenue par voie parasternale droite, chez un chien sain et un chien Doberman femelle de 6 ans atteinte de myocardiopathie dilatée.....	75
Figure 23 : Coupe bidimensionnelle grand axe 4 cavités obtenue par voie parasternale droite chez un chien sain, et un chien Doberman femelle de 6 ans atteint de myocardiopathie dilatée.....	75
Figure 24 : Examen Doppler Tissulaire du mouvement radial de la paroi libre du ventricule gauche sur une coupe petit axe transventriculaire obtenue par voie parasternale droite, de deux points situés dans le myocarde en région sous-endocardique et sous-épicaire chez un Doberman sain.....	76
Figure 25 : Forme fibreuse atténuée de myocardiopathie dilatée à l'examen histologique.....	78
Figure 26 : Forme dégénérative de myocardiopathie dilatée à l'examen histologique.....	78
Figure 27 : Comparaison du pourcentage de chiens de race Boxer possédant la mutation de la striatine ou pas chez les chiens atteints de myocardiopathie arythmogène droite ou de myocardiopathie dilatée et chez les chiens indemnes.....	80
Figure 28 : Chien de race Doberman.....	81
Figure 29 : Graphique de type Manhattan Plot représentant les loci associés significativement avec la myocardiopathie dilatée dans des lignées américaines de Dobermans.....	83
Figure 30 : Extrait du chromatogramme du séquençage d'une partie du gène <i>PDK4</i> , chez un chien atteint de myocardiopathie dilatée.....	83
Figure 31 : Observation au microscope électronique du myocarde d'un Doberman atteint de myocardiopathie dilatée.....	84

Figure 32 : Résultat de l'étude européenne de type Genome Wide Association Study chez des Dobermans atteints ou non de myocardiopathie dilatée.....	86
Figure 33 : Fréquence des différents génotypes pour le marqueur Single Nucleotide Polymorphism (SNP) TIGRP2P73097 dans les différents groupes de Dobermans testés dans le cadre de l'étude LUPA.....	87
Figure 34 : Chien de race Dogue Allemand possédant une robe de type arlequin.....	88
Figure 35 : Pedigree d'une famille américaine de Dogues Allemands dans laquelle ségrégue une myocardiopathie dilatée.....	89
Figure 36 : Pedigrees de deux familles britanniques de Dogues Allemands dans lesquelles ségrégue une myocardiopathie dilatée.....	90
Figure 37 : Comparaison de l'expression des gènes codant la triadine et la calstabin 2, obtenue par réaction par polymérisation en chaîne après transcription inverse (RT-PCR) en temps réel chez trois Dogues Allemands souffrant d'un stade avancé de myocardiopathie dilatée et trois chiens d'autres races, non atteints de myocardiopathie dilatée.....	91
Figure 38 : Chien de race Lévrier Irlandais.....	92
Figure 39 : Manhattan Plot permettant d'identifier les loci ségréguant avec la myocardiopathie dilatée du Lévrier Irlandais.....	93
Figure 40 : Chien d'Eau Portugais.....	94
Figure 41 : Pedigree d'une famille de chiens d'Eau Portugais de race pure dans laquelle ségrégue une myocardiopathie dilatée juvénile.....	95
Figure 42 : Résultat de l'analyse de liaison génotype/phénotype pour les différents marqueurs de type Single Nucleotide Polymorphism (SNP) situés sur le chromosome 8 chez le chien d'Eau Portugais	95
Figure 43 : Chien de race Terre-Neuve.....	96
Figure 44 : Pedigree de deux familles de chiens de race Terre-Neuve dans lesquelles ségrégue une myocardiopathie dilatée.....	97
Figure 45 : Coupes bidimensionnelles transventriculaires en télédiastole et coupes temps-mouvement transventriculaires obtenues par voie parasternale droite chez un chat atteint de myocardiopathie hypertrophique et chez un chat sain.....	100
Figure 46 : Observation macroscopique d'une coupe grand axe d'un cœur de chat atteint de myocardiopathie hypertrophique.....	102
Figure 47 : Observation histologique de la paroi libre du ventricule gauche d'un chat atteint de myocardiopathie hypertrophique.....	102
Figure 48 : Chat de race Maine Coon.....	103

Figure 49 : Résultats (pour les protéines MYBPC3, myomésine et β -actine) du Western blot réalisé à partir de prélèvements de la paroi libre du ventricule gauche chez des chats sains et un chat atteint de myocardiopathie hypertrophique.....	104
Figure 50 : Mise en évidence de la substitution d'une paire de base touchant le codon 31 du gène <i>MYBPC3</i> chez le Maine Coon.....	105
Figure 51 : Modélisation informatique de la structure secondaire de la protéine MYBPC3 chez des chats possédant ou non la mutation A31P	105
Figure 52 : Modélisation informatique de la structure secondaire de la protéine MYBPC3 non mutée, et des modifications de structure apportées par la mutation A31P et par un polymorphisme appelé A74T.....	106
Figure 53 : Analyse par immunofluorescence de la présence de la protéine sarcomérique MYBPC3 dans la paroi libre du ventricule gauche, chez un chat sain homozygote sauvage et chez des chats atteints de myocardiopathie hypertrophique.....	107
Figure 54 : Résultats de l'étude de corrélation entre la présence des mutations A31P et A74T dans le génotype, et le fait d'être atteint de myocardiopathie hypertrophique.....	109
Figure 55 : Chat de race Ragdoll.....	110
Figure 56 : Comparaison de la structure secondaire de la protéine MYBPC3 en fonction de la nature de l'acide aminé en position 15 sur le domaine 6 de la protéine : arginine « R » ou tryptophane « W ».....	112
Figure 57 : Courbe de Kaplan Meier représentant les différentes courbes de survie pour des chats hétérozygotes pour la mutation MYBPC3-R820W, des chats homozygotes pour cette même mutation, et des chats possédant l'allèle non muté pour le gène <i>MYBPC3</i>	113
Figure 58 : Chat de race Sphynx.....	114
Figure 59 : Pedigree d'une lignée de Sphynx dans laquelle ségrégue la myocardiopathie hypertrophique.....	115
Figure 60 : Chat de race British Shorthair.....	116
Figure 61 : Chat de race American Shorthair.....	117
Figure 62 : Chat de race Persan.....	118
Figure 63 : Chat Européen.....	119
Figure 64 : Diagramme montrant le nombre de gènes en commun chez le chien, la souris et l'homme, et le nombre total de gènes pour chaque espèce.....	140
Figure 65 : Principe de la thérapie génique à l'aide de différents types de vecteurs viraux.....	143

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Différents modes de transmission des maladies monogéniques.....	21
Tableau 2 : Ensemble des gènes codant les protéines impliquées dans le sarcomère et caractéristiques des mutations correspondantes.....	35
Tableau 3 : Ensemble des gènes codant les principales protéines du cytosquelette et caractéristiques des mutations associées.....	41
Tableau 4 : Ensemble des gènes codant les protéines impliquées dans le signal électrique et caractéristiques des mutations associées.....	45
Tableau 5 : Ensemble des gènes codant des facteurs de régulation du mécanisme de couplage excitation-contraction des myocytes.....	52
Tableau 6 : Gènes touchés par des mutations à l'origine de myocardiopathie hypertrophique chez l'homme.....	55
Tableau 7 : Gènes touchés par des mutations à l'origine de myocardiopathie dilatée chez l'homme.....	58
Tableau 8 : Causes de myocardiopathie dilatée.....	72
Tableau 9 : Signes fonctionnels et signes physiques des différents types d'insuffisance cardiaque.....	73
Tableau 10 : Gènes pour lesquels l'étude de Wiersma <i>et al.</i> (2008) a montré l'absence d'association avec la myocardiopathie dilatée chez le chien de race Terre-Neuve.....	98
Tableau 11 : Séquence d'acides-aminés d'une partie de la protéine MYBPC3 chez le chat contrôle et chez le chat possédant la mutation R820W.....	111
Tableau 12 : Changements de structure touchant la protéine codée par le gène <i>MYBPC3</i> chez un chat de race Ragdoll possédant la mutation responsable de la myocardiopathie hypertrophique.....	111
Tableau 13 : Liste des laboratoires proposant le test de détection de la mutation MYBPC3-A31P chez le chat de race Maine Coon.....	126
Tableau 14 : Effets des pratiques d'élevage sur l'évolution théorique de la diversité génétique et des paramètres liés à la santé des chiens de race.....	129
Tableau 15 : Différents vecteurs utilisables en thérapie génique.....	144

LISTE DES ABREVIATIONS

AAV	Virus Associé aux Adénovirus (<i>Adenovirus Associated Virus</i>)
ACTC	Gène codant l'actine cardiaque (<i>Actine alpha cardiac muscle</i>)
ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
ADN	Acide désoxyribo-nucléique
ADP	Adénosine di-phosphate
AD	Atrium droit
AG	Atrium gauche
AMP	Adénosine mono-phosphate
AMPK	Protéine kinase AMP dépendante
ANK2	Gène codant l'ankyrine (<i>ankyrin 2 neuronal</i>)
ARN	Acide ribo-nucléique
ASPH	Gène codant la β -hydroxylase
ATP	Adénosine tri-phosphate
ARVC	Myocardiopathie arythmogène droite (<i>arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy</i>)
Ca²⁺	Calcium
CALM	Gène codant la calmoduline
CaM	Calmoduline (protéine)
CaMBD	Domaine de liaison à la calmoduline
CASQ2	Gène codant la calsequestrine 2
CASQ2	Calsequestrine-2 (protéine)
Cav1.2	Canal Ca ²⁺ transmembranaire
CAV1	Gène codant le canal Ca ²⁺ transmembranaire
CAVI	Protéine cavéoline
CSRP3	Protéine 3 riche en cystéine (<i>cysteine and glycine-rich protein 3</i>)
Cx	Connexine
ddNTP	Di-désoxyribo-nucléotide tri-phosphate
dNTP	Désoxyribo-nucléotide tri-phosphate
DES	Gène codant la desmine (<i>desmin</i>)
DHPR	Gène codant un récepteur à la dihydropyridine
DMD	Gène codant la dystrophine (<i>dystrophin</i>)
DSG2	Gène codant la desmoglénine 2 (<i>desmoglein 2</i>)
DSP	Gène codant la desmoplakine (<i>desmoplakin</i>)
ECG	Électrocardiogramme
EMD	Gène codant l'émérine (<i>emerin</i>)
ESV	Extrasystole ventriculaire
FCI	Fédération Cynologique Internationale
FKBP1B	Protéine de liaison au facteur immunosuppresseur FK506 (<i>FK506 binding protein 1B</i>)
GWAS	Étude pangénomique (<i>Genome Wide Association Study</i>)
hERG	Gène codant le canal K ⁺ voltage-dépendant KCNH2 (<i>potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 2</i>)
IC	Insuffisance cardiaque
IECA	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
JUP	Plakoglobine (<i>junction plakoglobin</i>)

K⁺	Potassium
Kb	Kilobases
KChIP2	Gène codant le canal K ⁺ voltage-dépendant KCNIP2 (<i>Kv channel interacting protein 2</i>)
KCNQ1	Gène codant le canal K ⁺ voltage-dépendant de type KVLQT1 (<i>potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1</i>)
Kir2.1	Gène codant le canal K ⁺ -dépendant KCNJ2 (<i>potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2</i>)
KRT71	Gène codant la kératine 71
LDB3	Facteur 3 de liaison au domaine LIM
LMNA	Gène codant les lamines A et C
LOOF	Livre Officiel des Origines Félines
Mb	Mégabase
MCD	Myocardiopathie dilatée
MCH	Myocardiopathie hypertrophique
MCR	Myocardiopathie restrictive
MHC	Chaîne lourde de la myosine (<i>myosin heavy chain</i>)
MinK	Gène codant le canal K ⁺ -dépendant KCNE1 (<i>potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 1</i>)
MiRP1	Gène codant le canal K ⁺ -dépendant KCNE2 (<i>potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 2</i>)
MLC	Chaîne légère de la myosine (<i>myosin light chain</i>)
MLP	Protéine musculaire LIM (<i>muscle lim protein</i>)
MYBPC3	Protéine C3 de liaison à la myosine (<i>myosin binding protein C3</i>)
MYH6	Gène codant la chaîne lourde MHC α du filament épais de myosine (<i>myosin heavy chain 6</i>)
MYH7	Gène codant la chaîne lourde MHC β du filament épais de myosine (<i>myosin heavy chain 7</i>)
MYL2	Gène codant la chaîne légère "régulatrice" de la myosine (<i>myosin light chain 2</i>)
MYL3	Gène codant la chaîne légère "essentielle" de la myosine (<i>myosin light chain 3</i>)
MYOM1	Gène codant la myomésine 1
MYOZ2	Gène codant la myozénine 2
Na⁺	Sodium
NCX	Échangeur Na-Ca ²⁺
NDUFV2	Gène codant la flavoprotéine NADH deshydrogénase 2
NFAT3	Facteur nucléaire des lymphocytes T activés (<i>nuclear factor of activated T cells</i>)
NT-ProBNP	Portion N-terminale de la pro-hormone ProBNP
Pb	Paire de bases
PCR	Réaction par polymérisation en chaîne (<i>polymerase chain reaction</i>)
PK4	Isoenzyme 4 de la pyruvate kinase deshydrogénase (<i>pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4</i>)
PFKM	Gène codant la phosphofructokinase du muscle
PKP2	Gène codant la plakophiline 2 (<i>plakophilin 2</i>)
PLN	Phospholambane
PMCA	Pompe Ca ²⁺ -ATPase de la membrane plasmique
PPVG	Paroi libre du ventricule gauche
PRKAG2	Gène codant la sous-unité PRKAG2 de la protéine AMPK (<i>protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit PRKAG2</i>)
PSIC	Position-specific independant count
RT-PCR	Réaction par polymérisation en chaîne après transcription inverse (<i>reverse-transcriptase polymerase chain reaction</i>)

RyR2	Récepteur cardiaque à la ryanodine (<i>ryanodin receptor 2</i>)
SERCA2A	Pompe transmembranaire sarcoplasmique Ca^{2+} -ATPase (<i>sarcoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase</i>).
S100A1	Protéine de liaison au calcium S100A1 (<i>S100 calcium binding protein A1</i>)
SAM	Mouvement systolique antérieur de la valve mitrale (<i>Systolic Anterior Motion</i>)
SCN5A	Gène codant le canal Na^+ voltage-dépendant SCN (<i>sodium channel, voltage-gated, type V, alpha subunit</i>)
SGCA	Gène codant le sarcoglycane alpha (α - <i>sarcoglycane</i>)
SGCB	Gène codant le sarcoglycane bêta (β - <i>sarcoglycane</i>)
SGCD	Gène codant le sarcoglycane delta (δ - <i>sarcoglycane</i>)
SIV	Septum interventriculaire
SNP	Single nucleotide polymorphism
SR	Réticulum sarcoplasmique
STRN	Gène codant la striatine (<i>striatin</i>)
TAZ	Gène codant la tafazzine (<i>tafazzin</i>)
TCAP	Gène codant la protéine téléthonine
TGFβ2	Gène codant le facteur de croissance de transformation de type β 2 (<i>transforming growth factor β2</i>)
TM	Temps-Mouvement
TMEM	Gène codant la protéine transmembranaire 43 (<i>transmembrane protein 43</i>)
cTnI	Troponine I cardiaque
TNNC1	Gène codant la troponine C type 1 (<i>troponin C type 1 (slow)</i>)
TNNC2	Gène codant la troponine C type 2 (<i>troponin C type 2 (fast)</i>)
TNNI3	Gène codant la troponine I (<i>troponin I type 3</i>)
TNNT2	Gène codant la troponine T (<i>troponin T type 2</i>)
TPM1	Gène codant la tropomyosine (<i>tropomyosin 1</i>)
TRDN	Gène codant la triadine
TTN	Gène codant la titine (<i>titin</i>)
VCL	Gène codant la vinculine et la métavinculine (<i>vinculin</i>)
VD	Ventricule droit
VG	Ventricule gauche
VIT	Gène codant pour la vitrine

Introduction

Les maladies cardiaques, ou cardiopathies, sont des maladies potentiellement graves, chez l'homme comme chez les carnivores domestiques. Le terme « cardiopathie » regroupe un ensemble de maladies touchant différents composants du cœur. Les cardiopathies seront considérées comme secondaires si elles sont causées par une autre affection ou une modification des paramètres hémodynamiques (pression artérielle, débit du retour veineux au cœur) et cardiaques (fréquence cardiaque, inotropisme). Le facteur causal de la cardiopathie est appelée « cause primaire » de la cardiopathie. Si aucune « cause primaire » n'est mise en évidence, la cardiopathie est considérée elle-même comme « primaire ». Lors de maladies cardiaques primaires, une origine génétique est très souvent postulée. La « composante génétique » correspond à l'ensemble des allèles du génome d'un animal, hérités de ses ancêtres, à l'origine d'une maladie.

Il existe plusieurs types d'affections cardiaques. Les myocardiopathies et les valvulopathies sont les affections les plus fréquentes chez les carnivores domestiques.

Les myocardiopathies sont définies comme des maladies touchant le myocarde, dont la structure et les propriétés contractiles sont modifiées, associées à un dysfonctionnement cardiaque (Richardson, 1996). Le myocarde peut alors subir différents types de modifications :

- Un épaissement et une augmentation de l'inotropisme : la myocardiopathie hypertrophique (MCH),
- Un amincissement de l'épaisseur du myocarde associé à une diminution de l'inotropisme : la myocardiopathie dilatée (MCD),
- Une fibrose du myocarde caractérisée par une diminution marquée de l'inotropisme : la myocardiopathie restrictive (MCR).

Les myocardiopathies sont très largement représentées chez les carnivores domestiques. Ces maladies sont un défi en santé vétérinaire, en raison des enjeux affectifs, économiques, et de bien-être animal qu'elles impliquent.

Les acteurs des filières d'élevage sont en attente de solutions efficaces pour diminuer la prévalence des maladies cardiaques félines et canines. Le dépistage clinique seul ne suffit souvent pas à éviter la production d'animaux atteints. En effet, les animaux appartenant à des lignées touchées par des maladies du myocarde deviennent en général symptomatiques relativement tardivement, souvent largement après l'âge de mise à la reproduction. Un diagnostic et un dépistage efficaces de ces maladies sont nécessaires, le plus tôt possible dans la vie de l'animal et avant l'âge de la mise à la reproduction, afin d'éviter de produire des animaux atteints ou à risque. Les enjeux sont donc à la fois éthiques et financiers pour les éleveurs.

La composante affective émanant du propriétaire et la prise en compte du bien-être animal sont fondamentales : les maladies cardiaques sont en général très graves et choquantes pour le propriétaire lorsqu'elles deviennent cliniques, impliquant lors d'insuffisance cardiaque (IC) congestive des œdèmes, de l'ascite, des malaises, des syncopes, voire une mort subite. Il est donc essentiel de les diagnostiquer/dépister, le plus précocement possible, afin de mettre en

place une thérapeutique adaptée permettant de retarder les phases de décompensation cardiaque et d'améliorer le confort de vie de l'animal.

Enfin, ces maladies sont également présentes dans l'espèce humaine, avec des signes cliniques très proches de ceux rencontrés chez les carnivores domestiques. Elles ont été très étudiées depuis plus de 20 ans et une origine génétique a été prouvée pour certaines d'entre elles. Cependant, l'ensemble des allèles en cause dans la composante génétique de ces maladies n'est pas encore connu, et des modèles animaux proches de l'homme (en ce qui concerne la physiopathologie et/ou la génétique) sont nécessaires pour l'étude plus approfondie des myocardiopathies humaines.

En raison de ces nombreux enjeux, les myocardiopathies d'origine génétique ont été plus particulièrement étudiées chez les carnivores domestiques depuis le séquençage complet du génome du chien (en 2005) et du chat (en 2007).

Après quelques rappels fondamentaux de génétique [*Partie 1*] et de physiologie cardiaque [*Partie 2*], nous ferons le bilan des connaissances actuelles sur l'origine génétique des myocardiopathies chez les carnivores domestiques [*Partie 3*], et nous montrerons l'intérêt de la bonne exploitation de ces connaissances, qui sont alors d'excellents outils pour la gestion des élevages félines et canins [*Partie 4*]. Enfin, nous analyserons l'apport des découvertes effectuées chez les carnivores domestiques pour la connaissance, la gestion voire le traitement des myocardiopathies de l'homme [*Partie 5*].

Préambule

Nous allons tout d'abord définir des notions-clés de génétique et de génétique canine et féline, afin de faciliter la compréhension de la première partie de ce manuscrit (Bossé, 2013 ; Abitbol, 2013) :

L'acide désoxyribonucléique (**ADN**) est la molécule constitutive du patrimoine génétique (des chromosomes). Elle est constituée de l'enchaînement de quatre éléments de base appelés nucléotides (A : adénine, C : cytosine, G : guanine et T : thymine) qui forment deux chaînes antiparallèles s'enroulant en une double hélice. L'enchaînement des nucléotides dans la molécule d'ADN lui donne sa signification grâce à ce que l'on appelle le code génétique. À chaque triplet de nucléotides correspond un acide aminé. Les acides aminés sont les éléments constitutifs des protéines. Ainsi, l'ensemble des gènes d'un individu renferme de l'information pour la synthèse de très nombreuses protéines indispensables à l'architecture et au fonctionnement de l'organisme. Un **gène**, unité de structure et de fonction du patrimoine génétique, est constitué d'un morceau d'ADN et code une protéine donnée (ou parfois un acide ribonucléique (ARN)).

Un **caractère** est, au sein d'une espèce, un élément de description des individus d'ordre morphologique, physiologique ou psychologique (Bateson 1907).

Le terme **phénotype** décrit un aspect observable d'un organisme, résultant de l'interaction entre son potentiel génétique et les influences de l'environnement.

Un **locus** (pluriel **loci**) est la localisation chromosomique unique définissant la position d'un gène ou d'une séquence d'ADN.

Un **allèle** est une des différentes formes possibles pour un même gène, à un locus donné, chez une espèce donnée. Un allèle peut être dominant (il impose son phénotype), récessif (il n'impose pas son phénotype) ou co-dominant (le phénotype est le résultat de l'expression des deux allèles) par rapport à un autre allèle.

Un **génotype** correspond à la constitution génétique d'un individu en ce qui concerne les allèles du ou des loci considérés. Ce terme est souvent étendu à la description de la totalité de l'information génétique d'un individu. Pour un locus donné, un génotype peut être homozygote (deux allèles identiques) ou hétérozygote (deux allèles différents).

Une **mutation** est, au sens mendélien du terme, une modification de l'information génétique, décelable par un changement brusque, intervenant sur un ou de plusieurs caractères. Au sens moléculaire du terme, une mutation est une modification accidentelle de la séquence d'un gène, par suppression ou ajout d'un ou plusieurs nucléotides, ou par substitution d'un ou plusieurs nucléotides par d'autres nucléotides. Une mutation n'est héréditaire que si elle touche l'ADN d'une cellule germinale.

Une **maladie d'origine génétique** est une maladie qui se transmet à la descendance (héréditaire) et dont l'origine est imputable à une ou plusieurs altérations/modifications touchant un ou plusieurs gènes.

L'**espèce canine** (*Canis familiaris*), présente des caractéristiques uniques, en tant qu'espèce dont l'histoire a été profondément marquée depuis sa domestication à partir de loups, par l'élevage et la séparation de l'espèce en de nombreuses races. Le génome du chien a

été l'objet de nombreuses études durant les 15 dernières années, pour plusieurs raisons : tout d'abord l'importance du chien en tant qu'animal de compagnie a motivé la recherche afin de connaître l'origine de maladies retrouvées dans certaines lignées ou races de chiens. De plus, la proximité du chien avec l'homme, notamment en ce qui concerne les caractéristiques cliniques pour de nombreuses maladies, et la structuration génétique unique des chiens de race en fait un modèle extrêmement intéressant pour étudier l'origine des maladies génétiques, et pour développer des moyens de lutte contre ces maladies (Lindblad-Toh *et al.*, 2005). Le chien possède 78 chromosomes répartis en 38 paires d'**autosomes** (chromosomes non sexuels) et deux **chromosomes sexuels** (X et Y). Son génome est constitué d'environ 2,4 milliards de nucléotides, formant 19 300 gènes environ (Parker *et al.*, 2010).

L'homme s'est intéressé à l'élevage du **chat domestique** (*Felis catus*) relativement tard, les différentes races existant aujourd'hui ayant été sélectionnées sur des critères esthétiques. De nombreuses races n'ont été reconnues par les clubs de races qu'au XXe siècle. Cependant, la variabilité génétique inter-races est déjà très importante, et des races comme l'Abyssin ou le Birman possèdent jusqu'à 90 % d'allèles spécifiques de la race (pour des marqueurs moléculaires), tandis que d'autres races, dont les critères d'appartenance sont souvent moins stricts, possèdent à peine 30 % d'allèles spécifiques de la race. L'ancienneté de la race influe ses caractéristiques génétiques et leur variabilité, mais également les critères d'appartenance plus ou moins stricts définis par les clubs de race. Le chat domestique possède 38 chromosomes répartis en 18 paires d'autosomes et deux chromosomes sexuels (Menotti-Raymond *et al.*, 2008).

Première partie :

Stratégies d'identification de gènes chez les carnivores domestiques

Lorsque l'on étudie une maladie donnée, il est fondamental de définir l'origine de cette maladie afin de mieux pouvoir lutter contre. Une maladie pourra être d'origine purement génétique, purement environnementale, ou à composante à la fois génétique et environnementale.

La mise en évidence de la composante génétique d'une maladie se fait selon plusieurs étapes. Il est tout d'abord nécessaire de mettre en évidence un excès de cas familiaux de la maladie par rapport à la population générale en comparant l'incidence de la maladie dans la population générale et au sein d'une famille ou lignée donnée. Il convient ensuite de montrer que cet excès de cas au sein d'une lignée donnée est dû à des facteurs génétiques, en éliminant l'ensemble des facteurs environnementaux pouvant être à l'origine de la maladie. Enfin, il faut analyser la composante génétique à l'origine de la maladie, en déterminant son mode de transmission et en recherchant les loci impliqués dans la maladie (Abitbol, 2013).

Nous décrirons dans cette première partie les outils actuellement disponibles pour étudier et déterminer l'origine génétique des maladies.

1. La détermination du mode de transmission génétique d'une maladie par l'étude approfondie des pedigrees

1.1 Les différents modes de transmission

Une fois le caractère héréditaire de la maladie établi, il convient de déterminer son/ses mode(s) de transmission le(s) plus probable(s).

Lorsque l'on étudie un ensemble d'individus afin de déterminer le mode de transmission d'une maladie, il est tout d'abord important de réaliser un arbre généalogique regroupant l'ensemble des individus d'une même lignée et détaillant leur statut atteint/non-atteint par la maladie, afin d'analyser précisément les caractéristiques de transmission de la maladie.

Le principe de base est de comparer les proportions de chiots/chatons malades et indemnes dans les portées avec les proportions attendues sous l'hypothèse d'un mode de transmission particulier. De façon générale, il existe deux grandes catégories de maladies génétiques :

- Les maladies monogéniques, dont la composante génétique est gouvernée par un unique gène,
- Les maladies polygéniques ou multifactorielles, dont la composante génétique est gouvernée par plusieurs gènes.

Les maladies monogéniques, possèdent différents modes de transmissions, qui sont présentés dans le Tableau 1. L'analyse des pedigrees se base sur ces hypothèses de modes de transmission.

Dans de nombreux cas, les maladies cardiaques sont dues à l'association de plusieurs gènes (au moins deux), dont l'action conjointe entraîne l'expression de la maladie : le mode de transmission est alors dit **polygénique (ou multifactoriel)**. Ces maladies sont particulièrement difficiles à étudier et la mise en évidence des gènes impliqués est très complexe (Meurs, 2010a). L'implication respective de chaque gène dans le déterminisme génétique de ces maladies est très difficile à identifier, et ces maladies sont également fortement influencées par des paramètres environnementaux (Abitbol *et al.*, 2010).

Tableau 1 : Différents modes de transmission des maladies monogéniques (Meurs, 2010a ; Abitbol *et al.*, 2010).

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique ; ARVC : Myocardiopathie Arythmogène Droite ; MCD : Myocardiopathie Dilatée. MCH : Myocardiopathie Hypertrophique.

Type d'hérédité	Allèle(s) responsable(s)	Principe	Caractéristiques	Descendance	Exemples
<u>Autosomique récessive</u>	Situé sur un chromosome autosome, allèle récessif.	Expression si l'allèle responsable est présent en deux copies (chez les homozygotes mutés).	- La maladie peut sauter une ou plusieurs générations ; - Mâles et femelles sont atteints de manière équivalente.	- Deux individus porteurs sains produisent 25 % d'individus atteints et 75 % d'individus sains ; - Deux individus atteints produisent une descendance atteinte à 100 % ;	- MCD chez le Lévrier Irlandais (Distl <i>et al.</i>, 2007) ; - MCD chez le chien d'Eau Portugais (Werner <i>et al.</i>, 2008).
<u>Autosomique dominante</u>	Situé sur un chromosome autosome, allèle dominant.	Expression clinique possible même si un seul allèle muté est présent (chez les hétérozygotes).	- Chaque individu atteint possède au moins un parent atteint (sauf si pénétrance incomplète, voir après) ; - Mâles et femelles sont atteints de la même façon ; - Un individu atteint sera soit homozygote muté (si viable) soit hétérozygote.	- Un individu hétérozygote produit environ 50 % d'individus atteints (sauf si pénétrance incomplète, voir après) ; - Un individu homozygote produit 100 % d'individus atteints (sauf si pénétrance incomplète, voir après).	- ARVC du Boxer (Meurs <i>et al.</i>, 1999) ; - MCD du Doberman (Meurs <i>et al.</i>, 2007a) ; - MCD du Terre Neuve (Dukes-McEwans et Jackson, 2002) ; - MCH du Maine Coon (Kittleson <i>et al.</i>, 1999) ; - Myocardiopathies humaines (Hershberger <i>et al.</i>, 2009). Remarque : ces maladies sont à pénétrance incomplète
<u>Récessive liée à l'X</u>	Situé sur le chromosome sexuel X, allèle récessif.	Expression clinique chez les mâles (n'ont qu'un seul chromosome X) et les femelles homozygotes (femelles porteuses asymptomatiques si elles sont hétérozygotes).	Grande majorité de mâles atteints, très peu de femelles atteintes (Meurs, 2010a).	- Un mâle atteint croisé avec une femelle non porteuse donne une descendance femelle porteuse hétérozygote à 100 % et une descendance mâle non atteinte ; - Une femelle porteuse asymptomatique transmet cet allèle à 50 % de sa descendance mâle qui sera atteinte et 50 % de sa descendance femelle qui sera porteuse. - Une femelle atteinte est le résultat du croisement entre une femelle porteuse ou atteinte et un mâle atteint.	MCD chez le Dogue Allemand (Meurs <i>et al.</i> , 2001)
<u>Dominante liée à l'X</u>	Situé sur le chromosome X, allèle dominant.	Expression clinique si l'individu possède au moins une copie de l'allèle dominant. Pas de porteurs sains.	- Mâles et femelles atteints ; - Femelles atteintes avec une fréquence plus importante ; - Signes cliniques chez les mâles souvent plus graves.	- Un mâle atteint transmettra la maladie à 100 % de ses filles et 0 % de ses fils ; - Une femelle atteinte transmettra la maladie à 50 % des mâles et 50 % des femelles de sa descendance (Abitbol <i>et al.</i>, 2010).	
<u>Transmission maternelle</u>	Allèle causal porté par l'ADN mitochondrial.	Atteinte clinique qui dépend du % de mitochondries mutées.	Mâles et femelles atteints de manière identique.	- Un mâle malade ne transmettra pas à sa descendance ; - Seule la mère transmettra la mutation car les mitochondries sont transmises uniquement par la mère (par l'ovocyte).	

1.2. La détermination du mode d'hérédité des myocardopathies chez les carnivores domestiques

L'analyse des pedigrees permet de mettre en évidence l'origine génétique et le mode de transmission d'un défaut spécifique.

Il est très important d'analyser les caractéristiques d'hérédité d'un caractère avant de mettre en place les études génétiques. Certains paramètres permettent également de diviser une même race en lignées, plus ou moins différenciées génétiquement, et donc plus ou moins atteintes par un défaut d'origine génétique : la distribution géographique des individus, l'existence de variétés au sein d'une même race, des techniques d'élevage spécifiques (Leroy et Baumung, 2011).

1.2.1. Variabilité de l'expressivité et de la pénétrance

De nombreuses maladies d'origine génétique, dont les myocardopathies, sont caractérisées par une variabilité dans la pénétrance et l'expression des allèles responsables de la maladie. Une maladie génétique caractérisée par une **pénétrance incomplète** signifie que les animaux porteurs de l'allèle muté ne déclareront pas tous la maladie. Cependant, les animaux porteurs de cet allèle transmettront quand même la maladie.

Dans le cas du mode de transmission autosomique dominant, une pénétrance incomplète explique qu'on puisse avoir moins de 50 % d'une portée atteinte cliniquement lorsqu'un parent est malade, ou bien que les deux parents puissent être sains cliniquement et donner naissance à une descendance malade (Abitbol *et al.*, 2010).

De plus, une **expressivité variable** signifie que, pour un même génotype, les phénotypes des animaux malades ne seront pas identiques et la gravité de la maladie sera différente.

Ces mécanismes de pénétrance incomplète et d'expressivité variables sont actuellement l'objet de recherches et n'ont pas encore été bien décrits. L'influence de facteurs environnementaux et génétiques sont notamment suspectés (Meurs, 2010a).

Lorsque l'on souhaite déterminer le mode de transmission d'une maladie au sein d'une famille, il est d'abord nécessaire d'observer la proportion d'individus atteints au sein des fratries, et de la comparer aux proportions attendues dans tous les modèles. Il faut également, dans les cas équivoques, prendre en compte les différents résultats que l'on peut obtenir dans l'hypothèse d'une pénétrance incomplète (Abitbol, 2013).

Remarquons cependant que dans le cas des maladies polygéniques, le pourcentage attendu de descendants malades, connaissant le statut des parents étant imprévisible, il n'est pas possible de tester statistiquement ce mode de transmission avec des outils statistiques classiques (test du Chi2 par exemple). Les méthodes utilisées sont fondées sur le maximum de vraisemblance et les probabilités (Abitbol, 2013).

1.2.2. Limites posées par les études de pedigree

Les analyses de pedigree présentent certaines limites, principalement dues à la proportion d'individus pour lesquels le caractère est connu. Un nombre limité de générations est disponible (il est en général possible de remonter au plus jusqu'aux années 1960-1970), et il y a des lacunes dans la connaissance des ancêtres de certains individus (concernant le diagnostic d'une maladie), ce qui mène à des biais car l'éloignement dans la liaison entre deux

individus n'est pas toujours connu. De plus, des erreurs de pedigree peuvent avoir eu lieu lors des enregistrements. On considère aux États-Unis qu'il existe, selon les études, une erreur de paternité de 1 à 10 % dans les pedigrees des chiens (Leroy et Baumung, 2011; Leroy, 2011).

2. L'étude moléculaire et la mise en évidence d'un ou de plusieurs gènes ayant un allèle causant ou favorisant la maladie

Une fois le mode de transmission de la maladie mis en évidence, il est nécessaire de s'intéresser à l'origine moléculaire de celle-ci, en mettant en évidence le/les locus en cause dans la maladie.

Deux types d'analyse existent : les études pangénomiques (ou clonage positionnel) dans lesquelles aucune hypothèse n'est faite concernant le gène en cause, et les études dites « gène candidat » pour lesquelles on postule qu'un gène pourrait être impliqué dans la maladie (car impliqué par exemple dans une maladie similaire dans une autre espèce) et où l'objectif est de confirmer ou infirmer le postulat de départ.

L'analyse pangénomique se base sur l'étude d'individus sains et atteints par la maladie. Les individus sont génotypés pour un ensemble de marqueurs génétiques répartis de façon homogène sur tous les chromosomes. L'objectif est de mettre en évidence un allèle d'un marqueur qui serait associé (étude d'association) ou lié (étude de liaison) à la maladie (Abitbol, 2013). Il est ensuite nécessaire de déterminer la relation de causalité entre la présence d'un allèle associé/lié à la maladie, et la maladie elle-même. Cette dernière étape passe par l'analyse moléculaire de la protéine codée, ainsi que par l'étude des mécanismes physiopathologiques mis en jeu.

Les études pangénomiques se distinguent en deux sous-types d'études :

- Les études d'association (également appelées cas/témoin), pour lesquelles une cohorte d'animaux atteints par la maladie (cas) et une cohorte d'animaux sains (témoins), non directement apparentés, sont génotypés ;
- Les études de liaison, qui étudient la ségrégation familiale des allèles et nécessitent donc de disposer de familles sur plusieurs générations (Schulze-Bahr, 2008).

2.1. Les marqueurs génétiques

Les études moléculaires se basent sur l'analyse de différents types de marqueurs génétiques.

Un marqueur génétique est une séquence d'ADN variable (polymorphe) dont le locus est connu, qui permet d'identifier des portions précises du génome et de réaliser une cartographie du génome. Ces marqueurs sont répartis tout le long du génome et permettent d'obtenir une cartographie précise de celui-ci. Les marqueurs moléculaires sont actuellement utilisés afin d'étudier la transmission d'un caractère.

Il existe différents types de marqueurs génétiques, classés en fonction de leurs caractéristiques.

- Les **marqueurs minisatellites** sont des séquences répétées en tandem, à un locus donné, mesurant une centaine de paires de bases. Le nombre de répétitions d'un motif identique (de 10 à 30 paires de bases) est à l'origine du polymorphisme des minisatellites, présents en grand nombre sur tout le génome des mammifères. Les

marqueurs minisatellites ont progressivement été remplacés par les marqueurs microsatellites, plus nombreux, plus polymorphes et plus simples d'utilisation.

- Les **marqueurs microsatellites** sont caractérisés par une séquence simple d'ADN (deux à six paires de bases) répétée en tandem un nombre variable de fois (d'une dizaine à une centaine de fois). Ils consistent souvent en un certain nombre de répétitions des nucléotides cytosine et adénosine (« CA »). Le nombre de répétitions pour un marqueur microsatellite donné peut donc varier entre individus.
- Les **marqueurs SNP** (*Single Nucleotide Polymorphism*), sont actuellement les marqueurs les plus utilisés. Les SNP sont des mutations ponctuelles ou des substitutions d'un unique nucléotide, dont les variations ne modifient pas la taille de la séquence d'ADN.

Le séquençage du génome du chien a été publié en 2005 (le chien fut le quatrième mammifère pour lequel le génome a été séquencé). Le séquençage du génome a été réalisé à partir de l'ADN d'une femelle Boxer sélectionnée pour son faible taux d'hétérozygotie (mis en évidence au préalable), ce qui permettait d'avoir des paires de chromosomes les plus similaires possibles, afin de faciliter le séquençage.

Cette étude, ainsi que des études complémentaires sur d'autres races de chiens, ont permis de mettre en évidence pour cette espèce plus de deux millions de SNP. Le séquençage total du génome a permis de découvrir de nombreux nouveaux SNP, particulièrement dans les régions chromosomiques qui étaient peu connues auparavant, notamment le chromosome X (Lindblad-Toh *et al.*, 2005).

L'ensemble des SNP disponibles actuellement permet une couverture du génome précise, avec une distance moyenne entre deux SNP de 13 kb (Kilobases) (Lequarré *et al.*, 2011). Les SNP sont caractérisés par une propriété appelée déséquilibre de liaison. Le déséquilibre de liaison désigne le degré avec lequel un allèle donné d'un certain SNP est corrélé avec un autre allèle d'un second SNP (Bush et Moore, 2012). De manière générale, deux loci sont en déséquilibre de liaison si la fréquence de la combinaison de deux de leurs allèles est plus élevée que celle attendue sous l'hypothèse d'une indépendance de ces deux loci. Deux loci en déséquilibre de liaison sont proches sur un même chromosome.

Chez le chat, une première version du génome d'un chat Abyssin a été obtenue par séquençage en 2007. Des études se basant sur le déséquilibre de liaison concluent qu'il est nécessaire de mettre en évidence environ 45 000 SNP sur le génome du chat afin de pouvoir réaliser des études d'association entre une maladie et la présence d'un allèle. En raison de la domestication tardive de l'espèce féline et de l'usage plus tardif de la consanguinité par rapport à l'espèce canine, il est nécessaire d'utiliser trois fois plus de SNP pour les études d'association chez le chat par rapport au chien, car le déséquilibre de liaison est plus faible (O'Brien *et al.*, 2008).

2.2. L'approche « gène candidat »

Avant 2005, la majorité des études visant à mettre en évidence le ou les gène(s) responsable(s) d'une maladie se basaient sur l'approche « gène candidat ».

Le principe de cette méthode consiste à s'appuyer sur la connaissance d'un gène associé à la maladie dans une espèce donnée et de tester le rôle causal ou non de ce gène dans une autre espèce ou race. Le choix d'un gène comme gène candidat peut également être guidé par la connaissance de l'effet moléculaire et cellulaire produit par la protéine codée par le gène.

Seule la région comprenant le gène d'intérêt est génotypée, pour analyser le lien entre la présence d'un allèle donné pour ce gène et le fait d'être atteint par la maladie. À partir d'ADN prélevé chez des individus atteints de la maladie et des animaux indemnes, le gène candidat est amplifié par PCR (réaction par polymérisation en chaîne). Le séquençage du gène chez des individus atteints et sains permet de comparer les individus et d'identifier des différences de séquences d'ADN associées à la maladie (Mellersh, 2008).

Enfin, des études d'expression (type RT-PCR : *reverse transcription* PCR ou Northern blot) permettent de réaliser des profils d'expression des gènes, entre des animaux atteints et des animaux sains, afin de mettre en évidence des différences (Parker *et al.*, 2006).

Cette technique s'est avérée fructueuse dans le cas de la MCH chez le Maine Coon. Le gène *MYBPC3* (*myosin binding protein C3*) est connu pour posséder chez l'homme plusieurs allèles étant à l'origine de la forme humaine de la MCH. Par ailleurs, des électrophorèses et des Western blot (étude des protéines) ont permis de mettre en évidence une réduction de l'expression de la protéine *MYBPC3* chez des chats atteints de MCH, par rapport à des chats sains. Ce gène a par conséquent été génotypé chez des chats Maine Coons sains et chez des chats Maine Coons atteints de MCH : une mutation par substitution a été mise en évidence en position 93 (changement d'une guanine par une cytosine).

Cette technique présente néanmoins des limites, et n'est applicable que dans un nombre limité de cas. Pour les maladies causées par des mutations n'ayant pas été identifiées au préalable dans d'autres espèces, il n'est pas possible d'appliquer la technique du gène candidat en raison du nombre trop important de gènes candidats potentiels (Mellersh, 2008). De plus, cette technique ne permet pas toujours d'aboutir à la mise en évidence du gène dont un allèle est associé à une maladie. C'est notamment le cas des études de type gène candidat réalisées chez le Doberman sur plus de 10 gènes, qui n'ont abouti à aucun résultat (O'Sullivan *et al.*, 2011).

2.3. Le clonage positionnel ou étude pangénomique : une approche très utilisée depuis 2005 chez le chien

La technique du clonage positionnel correspond à l'investigation de l'ensemble du génome d'un individu afin de mettre en évidence la région dans laquelle le ou les gènes responsables d'un caractère ou d'une maladie sont situés.

Elle se base sur le principe selon lequel des marqueurs génétiques, des gènes, ou des mutations situés sur un même chromosome ont tendance à ségréger et à être transmis à la descendance ensemble. Si deux éléments (marqueur ou gène) sont proches sur un même chromosome, ils auront moins de chances d'être séparés par le phénomène de recombinaison méiotique, lors duquel l'échange de matériel génétique peut avoir lieu entre des chromosomes (Mellersh, 2008). Le clonage positionnel se base sur le principe du déséquilibre de liaison. Nous rappelons que le déséquilibre de liaison se définit par le fait qu'une combinaison d'allèles située sur deux ou plusieurs loci est plus fréquente que celle que l'on peut attendre sous l'hypothèse de non liaison des loci. Deux loci sont dits en déséquilibre de liaison lorsqu'ils sont proches et transmis ensemble. Dans les études d'association, l'objectif est de mettre en évidence un déséquilibre de liaison entre les allèles d'un marqueur et les allèles du locus recherché (Abitbol, 2013).

L'analyse d'un nombre important de marqueurs génétiques, appelée GWAS (genome wide association study) chez des animaux atteints ou indemnes pour une maladie, permet donc d'identifier les marqueurs associés à la maladie. Comme la localisation du marqueur dans le génome est connue, il est alors possible de localiser la mutation à l'origine de la maladie : des

études d'association sont réalisées afin de déterminer avec quelle fréquence certains allèles sont présents dans chacun des groupes atteints/indemnes de la maladie (Mellersh, 2008).

Cette technique est utilisée depuis plusieurs décennies, mais elle s'est fortement développée avec le séquençage complet du génome du chien en 2005. Avant le séquençage du génome du chien, les marqueurs utilisés étaient de type microsatellite. Le séquençage du génome du chien a permis de décrire la position de plus de deux millions de marqueurs génétiques de type SNP, qui rendent l'étude du génome du chien plus efficace. De plus, l'histoire des races canines, rapidement très cloisonnées, a une influence sur le déséquilibre de liaison, ce qui en fait un excellent modèle pour les études d'association : au sein d'une même race, le déséquilibre de liaison est très grand, allant parfois jusqu'à 100 fois la taille du déséquilibre de liaison observable au sein de l'espèce humaine, alors que dans la population canine générale, ce déséquilibre de liaison est beaucoup plus court et similaire à celui de l'espèce humaine [environ 10 kb]. Chez le chien, le déséquilibre de liaison intra-race peut aller de 20 kb chez le Labrador à plus de 4,5 mégabases (Mb) en certains endroits du génome chez le chien de race Pékinois (Parker *et al.*, 2010).

Une large étude sur l'espèce canine, nommée LUPA, en référence à la louve qui nourrit Remus et Romulus dans la mythologie romaine, a été menée à l'échelle de l'Europe entre 2008 et 2011. Cette étude cas-témoins (d'association) s'est basée sur les techniques de génotypage à grande échelle, selon le principe GWAS, et a consisté en la collecte et l'analyse de l'ADN de cohortes très importantes de chiens de race atteints de diverses maladies génétiques d'intérêt pour la recherche en santé humaine. L'objectif était de déterminer l'origine génétique de ces maladies pour ensuite appliquer cette recherche à l'homme (Lequarré *et al.*, 2011). Certains résultats ont déjà été publiés et une partie des données sont actuellement encore en cours d'analyse et d'interprétation. Cette étude a notamment permis de mettre en évidence l'origine génétique de l'épilepsie juvénile chez le chien de race Lagotto romagnolo. La mutation causale siège dans un nouveau gène candidat pour l'étude de l'étiologie de l'épilepsie juvénile chez l'homme, et les résultats permettent d'améliorer la connaissance des caractéristiques physiopathologique de la maladie chez l'enfant (Seppälä *et al.*, 2011).

2.3.1. Le recrutement des animaux

Pour les études d'association pangénomiques chez le chien, il a été montré qu'il était nécessaire d'avoir au minimum 100 à 200 animaux malades, et le même nombre d'animaux non malades, dans le cas de l'étude de l'origine génétique d'une maladie polygénique. Pour les maladies autosomiques récessives, une vingtaine de malades et une vingtaine de sains suffisent. Pour une maladie autosomique dominante, ces chiffres doivent être multipliés par deux (Lindblad-Toh *et al.*, 2005).

2.3.2. Le phénotypage : séparation des animaux étudiés en deux cohortes

Les critères de recrutement des animaux malades/non malades sont rigoureusement définis préalablement à l'étude, et se basent, en fonction de l'affection étudiée, sur des données clinique, électrocardiographique, échocardiographique, Doppler, histologique ou encore nécropsique. Il est important d'avoir un diagnostic précis et certain de la maladie, afin d'éviter des biais liés au diagnostic.

Il est nécessaire de prendre en compte de nombreuses limites inhérentes aux maladies génétiques, et à leur diagnostic. En effet, l'âge d'apparition d'une maladie génétique peut être très tardif, et le recrutement présente ainsi un biais si un animal qui déclenchera la maladie

quelques années plus tard est inclut dans le groupe d'animaux sains. De plus, même si une maladie a été beaucoup étudiée, il est toujours difficile de connaître précisément l'âge d'apparition des symptômes (Lyons, 2010). Par ailleurs, il faut prendre en compte la variabilité de l'expressivité dans le diagnostic de la maladie. Pour un allèle donné, plusieurs individus atteints génétiquement ne présenteront pas tous les mêmes signes cliniques et, dans le cas de la MCH, des degrés différents d'atteinte du myocarde sont observables. Des signes cliniques d'IC congestive ne seront présents que chez les chats dont l'hypertrophie de la paroi ventriculaire est importante (Lyons, 2010).

Enfin, la meilleure façon d'obtenir un diagnostic de certitude chez un animal donné afin de déterminer l'association réelle entre une maladie génétique et le fait de posséder une mutation spécifique pour un gène donné, est de suivre les animaux testés tout au long de leur vie. Un suivi à long terme permet de s'assurer de la présence ou de l'absence d'une maladie qui pourrait notamment se déclarer très tardivement. Cela est notamment le cas des myocardiopathies, qui sont des atteintes pour lesquelles les animaux peuvent rester asymptomatiques très longtemps. Le diagnostic échocardiographique des myocardiopathies n'est également pas toujours évident, notamment dans le cas d'un chat atteint de MCH qui présente des valeurs de parois ventriculaires d'épaisseur dans les valeurs normales hautes, ou dans le cas d'un Boxer atteint de myocardiopathie arythmogène droite asymptomatique (ARVC) (Lyons, 2010). Il est donc fondamental, lors de ces études, d'avoir un suivi clinique régulier de l'animal sur la période la plus longue possible.

2.3.3. L'extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN se fait à partir d'un prélèvement réalisé chez les animaux étudiés. Ce prélèvement peut être soit un échantillon sanguin (prise de sang), soit un écouvillon buccal prélevé à l'aide d'une cytobrosse.

Une étude réalisée en 2011 a permis de montrer que ces deux types d'échantillons permettent d'obtenir des résultats quasiment identiques pour l'analyse et le *screening* entier du génotype d'un individu (Rincon *et al.*, 2011).

2.3.4. Le génotypage : mise en évidence d'une région candidate

Le génotypage consiste à déterminer le génotype (composition allélique) de tous les individus malades et sains, pour un ensemble de marqueurs (Abitbol, 2013). La mise en évidence d'une région candidate va impliquer l'analyse de milliers de marqueurs génétiques présents sur l'ensemble du génome des animaux étudiés, afin de mettre en évidence une combinaison d'allèles à un endroit donné qui est héritée en bloc avec la maladie : cette combinaison d'allèles est nommée haplotype. Les marqueurs les plus utilisés actuellement sont les marqueurs de type SNP.

Grâce au séquençage entier des génomes, il existe désormais des banques de SNP que les chercheurs peuvent utiliser afin d'étudier l'origine génétique d'une maladie donnée. Des outils de génotypage puissants ont été développés pour le chien et le chat : les puces à marqueurs SNP. Les puces à marqueurs SNP sont un ensemble de sondes d'ADN (chacune spécifique d'un marqueur SNP) fixées sur une surface solide. Elles permettent de génotyper un individu pour plusieurs dizaines de milliers de marqueurs SNP en une seule fois. Les puces actuellement disponibles contiennent de très nombreux marqueurs SNP (de 50 000 à 170 000). Grâce à une technique d'hybridation de l'ADN, il est désormais possible de génotyper un individu pour plusieurs dizaines de milliers SNP positionnés sur la puce, en une seule fois. Le génotype d'un

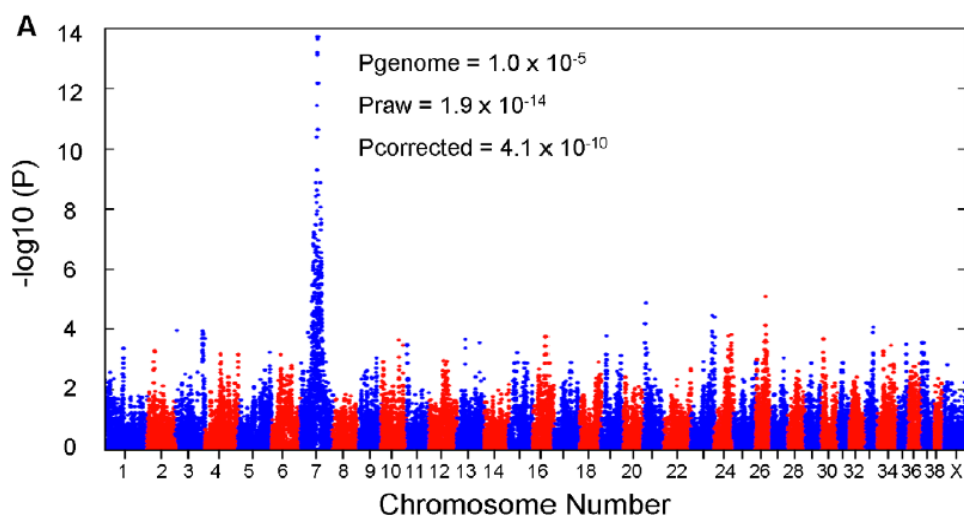
animal est donc obtenu pour des milliers de loci répartis de façon homogène sur les chromosomes. Des logiciels dédiés permettent d'analyser le très grand nombre de données de génotype générées (Lequarré *et al.*, 2011; Purcell *et al.*, 2007).

Ces logiciels réalisent des analyses statistiques permettant de comparer les génotypes de chaque chien étudié, afin d'identifier les régions chromosomiques présentant des différences alléliques pour les marqueurs génotypés, entre le groupe d'animaux atteints par une maladie et le groupe d'animaux indemnes. Ces régions seront appelées « régions candidates » ou « régions d'association » (Abitbol *et al.*, 2010). L'association d'une région candidate à une maladie est quantifiée par une valeur statistique (Shearin et Ostrander, 2010).

Les résultats de l'analyse individuelle de chacun des SNP chez les animaux cas et témoins et de leur association à la maladie est représentée dans un graphique appelé « Manhattan Plot ». Un « Manhattan Plot » représente l'ensemble des valeurs de « p » illustrant l'association avec la maladie, sur la totalité du génome de chacun des individus testés (en général ce sont les valeurs du « p » d'un test du χ^2). Cela permet de mettre en évidence les zones les plus associées à la maladie (Figure 1).

Figure 1 : Manhattan Plot obtenu lors d'une étude « cas-témoins » chez le Cavalier King Charles, mettant en évidence l'association significative de marqueurs situés sur le chromosome 7 avec une maladie appelée « episodic falling ».

SNP : Single nucleotide polymorphism. Chaque point correspond à la valeur des « p », pour un marqueur SNP, de l'association entre ce marqueur et la maladie. L'axe des « X » correspond à la représentation du génome, permettant de localiser les SNP sur les différents chromosomes. L'axe des « Y » montre la force d'association [$-\log_{10}(p)$] entre chaque SNP et la maladie (Forman *et al.*, 2012).



2.3.5. Restriction à la région candidate, inventaire des gènes, tri de ces gènes en fonction de leur pertinence

Une fois la région candidate mise en évidence, un inventaire de l'ensemble des gènes connus dans la région candidate est réalisé, en utilisant les bases de données disponibles. En fonction des signes cliniques et de la physiopathologie de la maladie, les gènes sélectionnés sont classés par ordre de pertinence comme gènes candidats vis-à-vis de la maladie. Les données d'expression de chacun des gènes candidats peuvent également être utilisées pour exclure certains gènes qui ne seraient pas exprimés de façon physiologique dans le tissu concerné par la maladie.

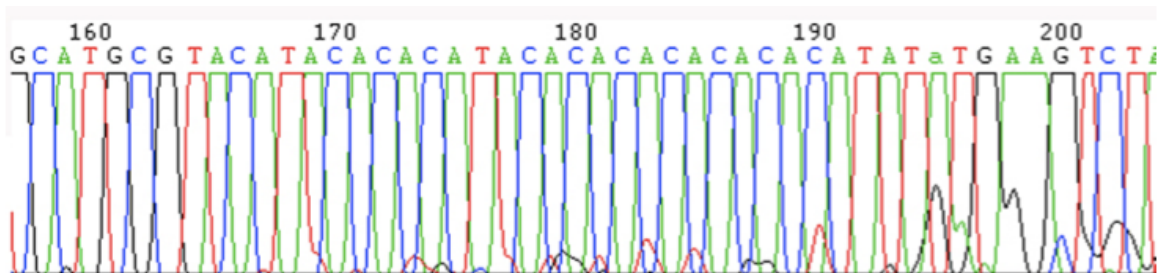
2.3.6. Le séquençage : mise en évidence de la mutation associée à la maladie

Une fois qu'un ou plusieurs gènes candidats ont été mis en évidence, ces gènes sont séquencés chez des individus malades et des individus sains, afin de mettre en évidence d'éventuelles mutations.

Le **séquençage** désigne la méthode visant à déterminer la succession de bases azotées de l'ADN : A (Adénine), T (Thymine), C (Cytosine) et G (Guanine). Le séquençage se fonde sur la technique de Sanger, consistant d'abord en une amplification de l'ADN cible par PCR, puis en sa dénaturation afin d'obtenir de l'ADN simple brin. Une ADN-polymérase permet ensuite de synthétiser le brin d'ADN complémentaire à partir d'une amorce spécifique complémentaire du brin étudié. Les bases azotées disponibles pour la synthèse des nouveaux brins contiennent des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), et parfois des didésoxyribonucléotides triphosphates (ddNTP), marquées avec des fluorophores (une couleur différente pour chaque ddNTP). Quand un ddNTP est incorporé à la place d'un dNTP, la polymérisation par l'ADN polymérase s'arrête. On considère que la polymérisation s'arrête au moins une fois pour chaque base de l'ADN à répliquer. Les fragments de taille différente obtenus sont ensuite analysés par électrophorèse capillaire et intégrés par des logiciels d'analyse de séquence, permettant d'obtenir un électrophorégramme ou chromatogramme (Figure 2), montrant le détail de la séquence. À l'aide de la méthode Sanger, il est possible de séquencer des morceaux d'ADN allant jusqu'à 900 paires de bases (pb) en général (Lamoril *et al.*, 2008).

Figure 2 : Électrophorégramme représentant une partie de la séquence du gène canin codant la striatine (Meurs *et al.*, 2010).

A : Adénine ; T : Thymine ; C : Cytosine ; G : Guanine



Cette méthode est d'abord réalisée pour les exons des gènes candidats (car une mutation située sur un exon peut avoir une conséquence sur l'enchaînement des acides aminés de la protéine codée), des jonctions intron-exon (recherche de mutations d'épissage) puis des séquences en 3' et 5' des gènes (séquences régulatrices), et enfin pour les introns (Abitbol, 2013).

Les séquences des gènes chez les différents individus sont ensuite comparées, afin de mettre en évidence des différences de séquences (allèles différents) associées à la présence de la maladie étudiée.

2.3.7. La validation de la mutation causale

Même si une mutation est mise en évidence, il est important de démontrer un lien de causalité probable avec la maladie. L'objectif de la validation de la mutation est de confirmer la pertinence clinique de cette mutation, car certaines mutations peuvent n'avoir aucune conséquence sur la morphologie de la protéine concernée et n'être qu'une variation mineure

entre races (Abitbol *et al.*, 2010). En effet, il existe de nombreuses substitutions d'acides aminés qui ne sont à l'origine d'aucun effet délétère et sont considérées comme des polymorphismes bénins. Il est donc fondamental de vérifier que la mutation mise en évidence comme ségrégant avec la maladie n'est pas un simple polymorphisme bénin qui, lui, ségrégue avec l'allèle causant l'effet délétère (Maron *et al.*, 2012).

Certains outils permettent d'investiguer la causalité de la mutation vis à vis de la maladie. Il est possible d'utiliser certains logiciels comme l'outil informatique « PolyPhen » (développé par l'*European Molecular Biology Laboratory* d'Heidelberg, Allemagne). Cet outil permet de prévoir l'impact d'une substitution d'un acide aminé par un autre sur la structure et la fonction d'une protéine donnée chez l'homme. Cet outil permet de calculer pour chaque substitution, un indice appelé PSIC (*Position-Specific Independant Count*) qui représente le rapport de la probabilité qu'un acide aminé prenne une position particulière, sur la probabilité que cet acide aminé se situe à n'importe quel endroit dans la structure en trois dimensions de la protéine. Cet indice quantifie la probabilité que la structure de la protéine soit affectée par la substitution d'un acide aminé par un autre. Il est également possible de modéliser la structure secondaire probable de la protéine obtenue et le caractère hydrophile de l'ensemble des acides aminés qui la composent grâce aux programmes GOR4 (PBIL, France) et Proteam (DNASTAR, Madison, WI, USA) (Meurs *et al.*, 2007b).

Une approche *in vivo* est par la suite importante, afin de vérifier la présence ou l'absence de la protéine mutée ou de la protéine normale. Il est ainsi possible de valider l'effet réel de la mutation sur une augmentation ou une diminution de la quantité de protéine produite (Western blot, immunofluorescence sur coupe), une modification des sites d'expression de la protéine (immunofluorescence sur coupe), et une modification de la structure de la protéine passant par une modification de son poids moléculaire (Western Blot), ainsi qu'une modification de la taille des ARN messagers (Northern Blot) ou de leur localisation (immunofluorescence sur coupe).

Il est également possible de valider la mutation causale *in vivo* expérimentalement, en testant l'effet de la mutation sur des souris *knock out* (invalidées pour le gène étudié), ou *knock in* pour lesquelles la mutation est artificiellement reproduite. Il est ainsi possible de comparer l'effet de la modification de la séquence génétique observée, et de mettre en évidence un éventuel effet phénotypique (Abitbol, 2013).

De plus, il est nécessaire de vérifier que la physiopathologie de la maladie concorde avec le gène muté et les conséquences moléculaires de la mutation. Les études d'expression des protéines codées par les gènes impliqués dans la maladie participent à la validation de la physiopathologie de la maladie et concordent à valider l'hypothèse obtenue par l'étude de clonage positionnel.

Enfin, la validation de la mutation passe par la vérification de l'absence de la mutation chez les animaux appartenant aux races non touchées par la maladie, ainsi que sa présence chez un nombre significatif d'animaux atteints. Cette étape est appelée validation populationnelle.

Deuxième partie :

Grandes classes de gènes impliqués dans le fonctionnement du cœur chez les carnivores domestiques

L'origine génétique des myocardiopathies chez l'homme a été mise en évidence durant les 30 dernières années. La compréhension de la physiopathologie de ces maladies implique la mise en évidence des rôles des différents gènes codant les protéines impliquées dans le fonctionnement cardiaque.

La spécificité du fonctionnement cardiaque passe en effet par l'existence de cellules et de protéines au rôle spécifique, qui présentent de très nombreuses interactions entre elles. La moindre anomalie concernant une cellule, une protéine ou perturbant une interaction peut par conséquent être à l'origine de dysfonctions cardiaques majeures (Hyun et Filippich, 2006).

L'étude moléculaire des maladies génétiques, dont l'étiologie repose sur la mutation d'un seul gène, a permis de mettre en évidence individuellement le rôle de ces différents gènes.

Dans la classe phylogénique des mammifères, le fonctionnement et le rôle des différents gènes est en général très proche voire identique, et il est donc possible d'extrapoler les découvertes faites en médecine humaine à la physiologie cardiaque des espèces canines et félines (Fatkin et Graham, 2002).

1. Structure de la cellule cardiaque et gènes impliqués

1.1. Les fibres musculaires

Les **fibres musculaires cardiaques** sont constituées d'un ensemble de cellules musculaires reliées entre elles, appelées myocytes, possédant un noyau excentré. Ces fibres musculaires forment des bifurcations et un réseau de fibres en trois dimensions.

Un **myocyte** renferme un ensemble de myofibrilles en interaction les unes avec les autres. Les myofibrilles sont orientées longitudinalement et ont des caractéristiques similaires aux myofibrilles des cellules musculaires striées squelettiques (Fatkin et Graham, 2002).

Les myocytes sont en connexion les uns avec les autres grâce aux stries scalariformes, liaisons entre les membranes de deux cardiomyocytes, et moyens d'union élaborés contenant des jonctions adhérentes (N-cadhérines, vinculine, caténines), des desmosomes (desmine, desmoplakine, desmocolline, desmoglénine) et des jonctions gap (connexines) (Fatkin et Graham, 2002).

Les **desmosomes** sont des complexes membranaires multiprotéiques qui permettent une intégrité structurale et fonctionnelle entre des cellules adjacentes, et sont un lien avec le cytosquelette de la membrane plasmique. La desmoplakine, la plakoglobine, et la plakophiline 2 sont responsables du couplage mécanique entre les cardiomyocytes, et permettent également une continuité entre l'actine sarcomérique et les filaments intermédiaires des cellules adjacentes. Ces protéines ont également un rôle dans la communication intercellulaire (Meurs *et al.*, 2007c).

L'absence d'adhésion correcte entre les cellules va entraîner leur détachement au niveau du disque intercalé (zone de liaison entre les cellules par les protéines du desmosome), plus particulièrement lors d'un stress mécanique. Elle peut également entraîner des mécanismes pathogéniques menant à terme à une accélération de l'apoptose des cellules musculaires cardiaques (Meurs *et al.*, 2007c).

1.2. La structure du réticulum sarcoplasmique

Les **cardiomyocytes** sont entourés d'une fine membrane appelée le sarcolemme, composé de la membrane plasmique des myocytes ainsi que de la lame basale qui les entoure.

Chaque cardiomyocyte contient un ensemble de fibres musculaires, composées à la fois de **filaments fins** (composés d'actine, d' α -tropomyosine et de troponine C, I et T) et de **filaments épais** (composés de myosine et de protéines C, H et X de liaison à la myosine) (Fatkin et Graham, 2002). Le **complexe troponine (C, I, T) - tropomyosine**, régulateur des interactions actine-myosine, est relié aux filaments d'actine (Fatkin et Graham, 2002). L'unité de base des fibres musculaires est le sarcomère, composé de filaments fins et de filaments épais (Figure 3). Ces structures interagissent entre elles et sont à l'origine de la contraction musculaire. Le réticulum sarcoplasmique est un organite intracellulaire constituant la réserve de Ca^{2+} pour la cellule musculaire.

La **myosine** se compose de deux chaînes lourdes (MHC : *myosin heavy chain* α et β) et deux chaînes légères (MLC). Chaque chaîne contient une tête, qui est capable de se fixer à l'actine, et un site ATPase. L'**actine** cardiaque présente un site de liaison à la tête de la myosine, et un site de liaison à l' α -actinine ainsi qu'à la dystrophine.

Un **sarcomère** est composé d'une bande A (zone où se superposent filaments fins et filaments épais), une bande M (composée de filaments épais), et deux bandes I (composée de filaments fins uniquement). Les bandes I sont structurées par les disques Z, qui sont un

ensemble de protéines comme l' α -actinine, maintenant l'organisation des myofilaments, par leur position perpendiculaire à ceux-ci (Fatkin et Graham, 2002). Les lignes Z définissent les extrémités d'un sarcomère (Figure 4).

Le **disque Z** contient un ensemble de protéines de structures et d'ancrage : l' α -actine, la filamine (« protéine de liaison à l'actine »), la nébulette, la téléthonine et la myotiline (Fatkin et Graham, 2002).

Des **protéines du cytosquelette** permettent de relier les différents filaments entre eux. La protéine titine, protéine majeure responsable de l'élasticité de la myofibrille, permet de relier les filaments de myosine, en s'étendant de la ligne Z à la ligne M. Les protéines myomésine 1 et 2 sont des protéines associées à la titine (Figure 4) (Fatkin et Graham, 2002).

Figure 3 : Représentation schématique de l'ultrastructure globale d'un sarcomère et de ses différents composants (d'après Fatkin et Graham, 2002).

Un sarcomère se compose de l'alternance entre une bande A (zone où se situe le filament épais de myosine) et une bande I (zone où l'on trouve uniquement les filaments fins d'actine). La bande A se compose d'une bande H (filament épais de myosine uniquement) et de la zone de superposition entre myosine et actine. La bande I se compose du disque Z et d'une zone où l'on trouve uniquement des filaments d'actine. Le disque Z est relié au filament épais de myosine par la protéine titine. Le disque Z se compose d'un ensemble de protéines du cytosquelette (desmine, α -actinine, troponine, tropomyosine) permettant de relier entre eux plusieurs filaments d'actine. Le complexe troponine-tropomyosine se situe sur les filaments d'actine et module le phénomène de liaison à la myosine.

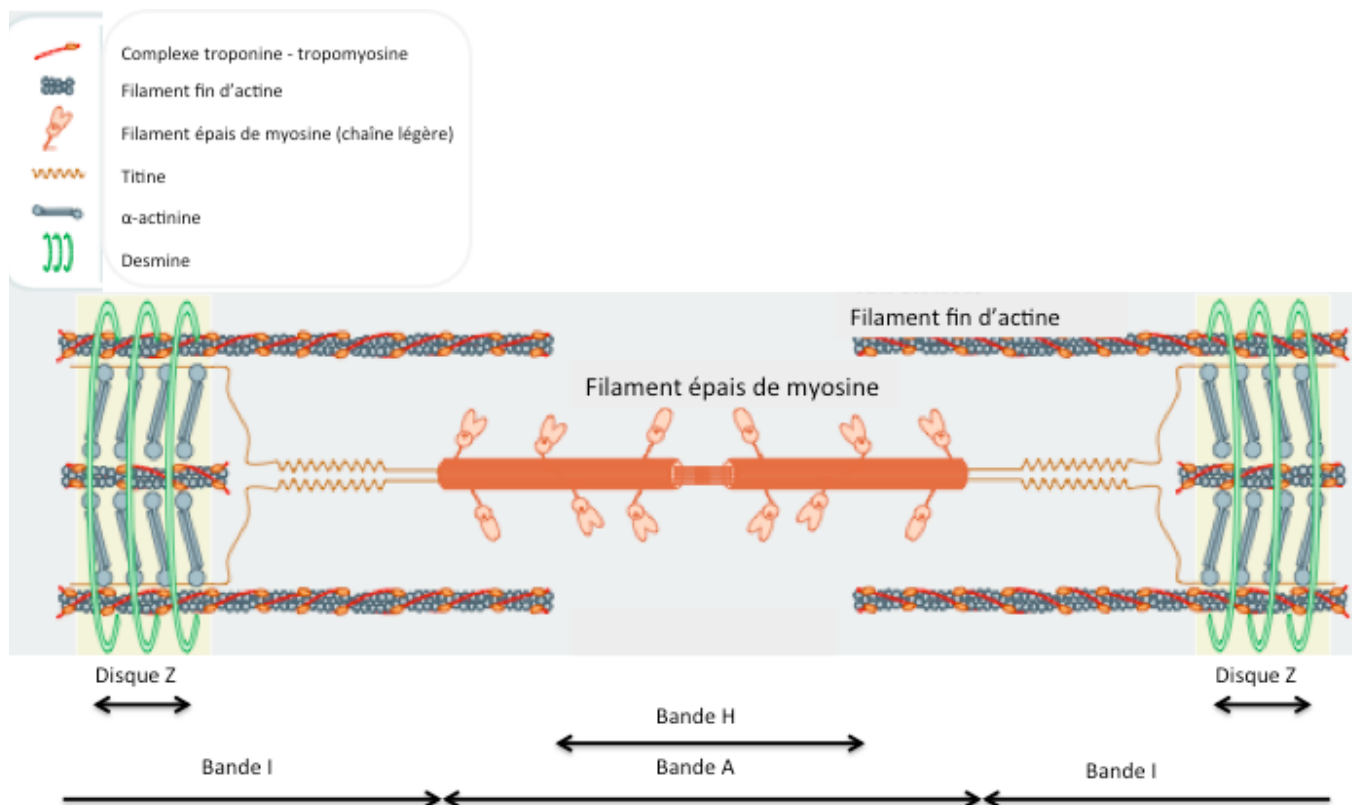
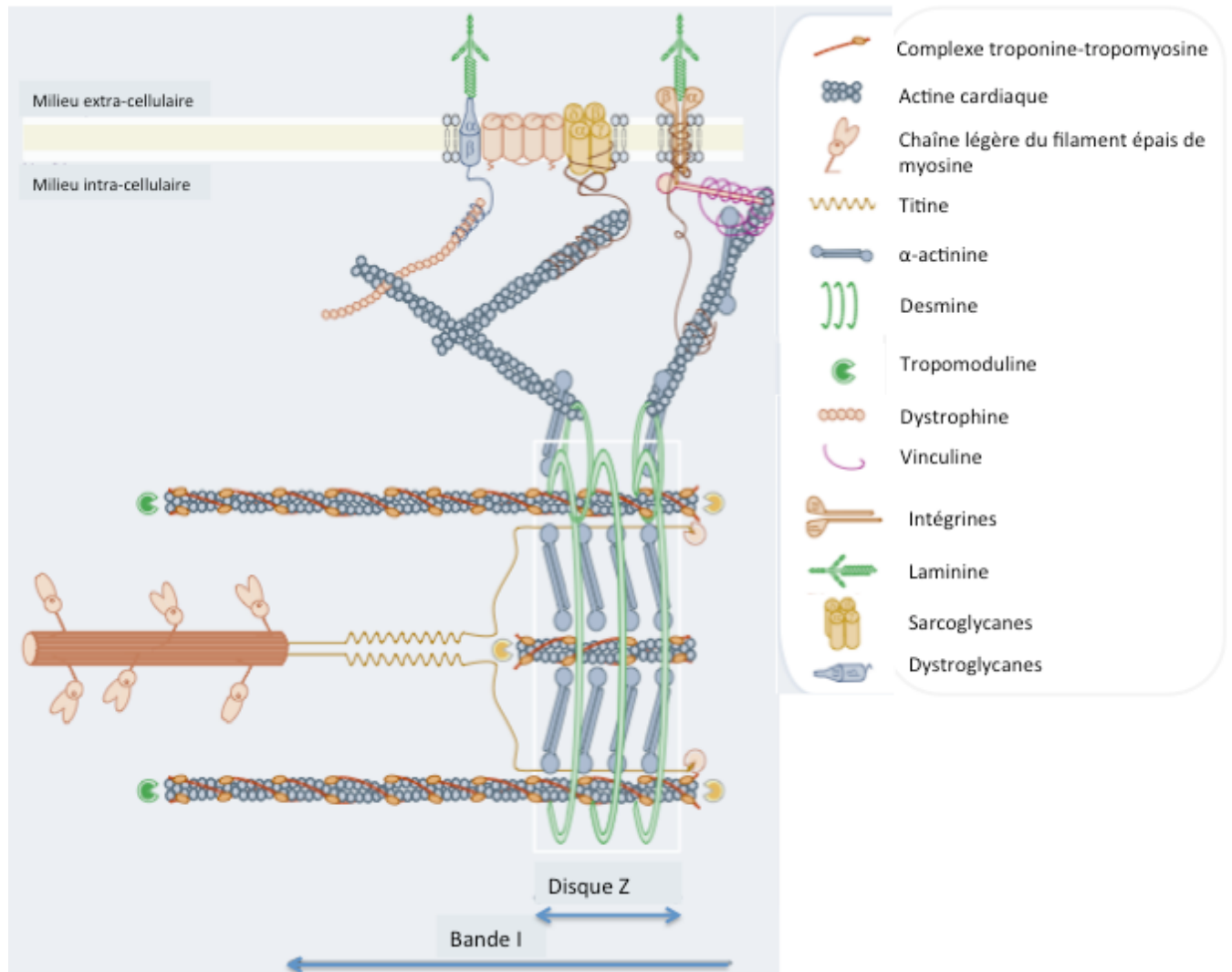


Figure 4 : Schématisation d'un disque Z et des protéines qui lui sont associées (d'après Sequeira *et al.*, 2014).

Le disque Z est en interaction directe avec la membrane du cardiomyocyte. Des protéines du cytosquelette présentes dans le cytoplasme (α -actinine, actine F, dystrophine, filamine, vinculine) relient le disque Z aux protéines transmembranaires du cytosquelette (dystroglycane, sarcoglycane, intégrines). Les protéines extracellulaires permettant l'ancrage intercellulaire et la communication intercellulaire (laminines) s'ancrent sur les protéines transmembranaires.



Le Tableau 2 reprend l'ensemble des gènes codant les protéines impliquées dans le sarcomère et indique les caractéristiques des mutations de ces gènes chez l'homme.

Tableau 2 : Ensemble des gènes codant les protéines impliquées dans le sarcomère et caractéristiques des mutations correspondantes (Fatkin et Graham, 2002 ; Hyun et Filippich, 2006, Parvatiyar *et al.*, 2012).

MCH : myocardiopathie hypertrophique, MCD : myocardiopathie dilatée.

<u>Protéine</u>	<u>Gène</u>	<u>Fonction et mutations</u>	<u>Myocardiopathies chez l'homme</u>
Chaîne lourde MHC α du filament épais de myosine	MYH6 (<i>myosin, heavy chain 6, cardiac muscle, alpha</i>)	Substitution d'un acide aminé arginine par un acide aminé glutamine (position 403). Conséquences : altération de la fonction diastolique (sensibilité au Ca^{2+} altérée) et ralentissement des cycles de déplacement de la tête de myosine sur l'actine. Les conséquences moléculaires et cellulaires de cette dysfonction diastolique et l'apparition de l'hypertrophie n'ont pas encore été mises en évidence.	Nombreuses mutations à l'origine de MCH
Chaîne lourde MHC β du filament épais de myosine	MYH7 (<i>myosin, heavy chain 7, cardiac muscle, beta</i>)	Mutations : perturbent les composantes mécaniques et catalytiques des interactions actine-myosine. Substitution d'un acide aminé Arginine par un Glutamine (localisé sur la tête de la myosine), qui perturbe l'efficacité de la contraction. Conséquences : perturbation du domaine d'interaction actine-myosine (diminution de la charge) ou perturbation du mouvement de la tête de la myosine (modification de la polarité de ce mouvement) : vitesse de raccourcissement de la myofibrille plus faible, puissance de contraction plus faible et ratio force/rigidité diminué : diminution de la génération des forces de contraction.	Nombreuses mutations à l'origine de MCH
Chaîne légère "essentielle" de la myosine (MLC essentielle)	MYL3 (<i>myosin, light chain 3, alkali; ventricular, skeletal, slow</i>)	Mutations faux-sens chez l'homme. Les MLC modulent l'efficacité du cycle de fixation des têtes de myosine à l'actine permettant la contraction musculaire. Mutations des gènes codant les MLC essentielles $\rightarrow$ augmentation de la vitesse de déplacement de l'actine par rapport à la myosine; Rôle dans la régulation de la puissance de contraction des myofibrilles <i>via</i> un mécanisme Ca^{2+} -dépendant.	MCH
Chaîne légère "régulatrice" de la myosine (MLC régulatrice)	MYL2 (<i>myosin, light chain 2, regulatory, cardiac, slow</i>)	Mutations faux-sens chez l'homme. Les MLC modulent l'efficacité du cycle de fixation des têtes de myosine à l'actine permettant la contraction musculaire. Mutation des gènes codant les MLC régulatrices $\rightarrow$ diminution de la sensibilité à l'ATP et au Ca^{2+} $\rightarrow$ diminution de la puissance de contraction. Rôle dans la régulation de la puissance de contraction des myofibrilles <i>via</i> un mécanisme Ca^{2+} -dépendant.	MCH
Actine cardiaque	ACTC (<i>actin, alpha, cardiac muscle</i>)	Mutations : - Touchant un acide aminé du domaine codant le domaine de liaison à la tête de la myosine $\rightarrow$ influe la génération des forces de contraction ($\rightarrow$ MCH). - Touchant un acide aminé de la ligne Z (impliquée dans la transmission des forces de contraction du sarcomère au cytosquelette extra-sarcomérique) ($\rightarrow$ MCD autosomique dominante).	MCH ou MCD en fonction de la localisation de la mutation.
Tropomyosine	TPM1 (<i>tropomyosin 1 (alpha)</i>)	Mutations : - Touchant un acide amine du site de liaison au Ca^{2+} $\rightarrow$ augmentation du seuil d'activation de la tropomyosine, et ainsi des changements de conformation protéique, et perturbation de la fixation des troponines ou altération de l'affinité	MCH ou MCD en fonction de la localisation de la mutation.

		pour le Ca^{2+} (→MCH) - Autres mutations du gène <i>TPM1</i> entraînant une modification de la charge de surface de la tropomyosine, et influençant ainsi sur l'intégrité de la structure protéique (→MCD).	
Troponine T	<i>TNNT2</i> (<i>troponin T type 2 (cardiac)</i>)	Mutations touchant un acide aminé du domaine d'interaction avec la tropomyosine (séquence -NH₂ terminale) et/ou du domaine de liaison à la tropomyosine, à la troponine C et à la troponine I (Séquence -COOH terminale). - Mutations de la séquence codant le domaine de liaison à la tropomyosine (plusieurs études) → augmentation de la vitesse de raccourcissement des myofibrilles (vitesse de translocation de l'actine par rapport à la myosine augmentée de 50 %) et réduction de la force maximale de contraction. Désorganisation cellulaire et fibrose des myocytes. Relaxation diastolique perturbée (dans la majorité des études). Augmentation de l'affinité de la troponine T pour le Ca^{2+} (démonstré dans une seule étude). - Mutations de la séquence codant le domaine de liaison aux troponines C et I (mutation par substitution) → coupure du domaine de liaison aux troponines C et I, diminution de la sensibilité au Ca^{2+}, diminution de la force de contraction (myocytes hypocontractiles et inhibition de l'activité de l'ATPase située sur la tête de la myosine). Fibrose des myocytes et diminution de leur nombre et de leur taille : diminution de la fonction systolique, et dégradation de la relaxation diastolique. - Délétions touchant la zone codant le domaine de liaison à la troponine C, sensible au Ca^{2+} → MCD chez l'homme.	MCH ou MCD en fonction de la localisation de la mutation.
Troponine I	<i>TNNI3</i> (<i>troponin I type 3 (cardiac)</i>)	Mutations : site de liaison à la troponine C et site de liaison à l'actine et à la tropomyosine. → Séquence codant le domaine responsable de l'inhibition de l'ATPase situé sur la tête de la myosine et sur le domaine de liaison à la troponine C, Ca^{2+}-dépendant : l'ATPase située sur la tête de la myosine n'est plus inhibée, et la sensibilité au Ca^{2+} est augmentée. Myocytes désorganisés, apparition de fibrose interstitielle.	MCH ou MCD en fonction de la localisation de la mutation.
Troponine C	<i>TNNC1</i> et <i>TNNC2</i> (<i>troponin C type 1 (slow) et troponin C type 2 (fast)</i>)	Rares mutations chez l'homme : augmentation de l'affinité de la troponine C avec le Ca^{2+} .	MCH ou MCD en fonction de la localisation de la mutation.
Protéine C de liaison à la myosine	<i>MYBPC3</i> (<i>myosin binding protein C, cardiac</i>)	Ancrage entre le filament épais et le filament fin. Touche des acides aminés localisés dans les bandes A du sarcomère. Mutations → altération des sites de liaison à la myosine et à la titine.	De nombreuses mutations sont à l'origine de MCH. Une mutation du gène <i>MYBPC3</i> à l'origine de MCD a également été mise en évidence.
Titine	<i>TTN</i> (<i>titin</i>)	Protéine géante qui contient des domaines de type immunoglobuline et des domaines de type fibronectine. Fonction : maintien de l'organisation cellulaire, maintien de l'élasticité des myofibrilles, et transfert d'information entre les cellules musculaires. Mutations : → Touchant des acides aminés situés dans la région d'ancrage de la titine au disque Z (→ MCH). → À l'origine d'une protéine titine tronquée ou d'une mutation non-sens touchant la séquence de type immunoglobuline de la zone de transition disque Z-bande I (→MCD)	MCH ou MCD en fonction de la localisation de la mutation.

1.3. Le cytosquelette extra-sarcomérique

Le cytosquelette extra-sarcomérique consiste en un ensemble de protéines permettant une liaison entre le sarcomère et la matrice extracellulaire. Il a un rôle structural, et permet également la transmission des messages chimiques et mécaniques entre les cardiomyocytes.

Il existe à la fois des protéines situées à proximité des myofibrilles, et des protéines situées à proximité de la membrane du sarcolemme.

Les protéines en interaction avec les myofibrilles sont les filaments intermédiaires, les microfilaments, et les microtubules.

- Les filaments intermédiaires de **desmine** forment une structure en trois dimensions, entourant les disques Z et permettant de connecter les disques Z entre eux (connexions longitudinales), et avec les costamères situés sous la membrane du sarcolemme (connexions latérales).

Les **costamères** sont des protéines situées du côté cytoplasmique du sarcolemme, sous la membrane plasmique du myocyte. Les costamères sont des sites d'ancrage et de liaison entre les différentes protéines du sarcomère et du sarcolemme. Un costamère est composé de plusieurs parties (Fatkin et Graham, 2002).

- Un complexe d'adhésion focal: il contient des protéines se connectant aux filaments d'actine et aux protéines transmembranaires α et β -intégrine.
- Un complexe basé sur la spectrine: il contient la protéine **ankyrine** (qui se lie à la spectrine et à l'actine), et la protéine **spectrine** (qui interagit avec l'actine, l'ankyrine et la desmine). L'ankyrine est une protéine composée de trois domaines: un domaine de liaison aux membranes (qui participe à assurer la stabilité des membranes, et se lie à de nombreuses protéines transmembranaires), un domaine de liaison à la spectrine (qui permet une continuité entre la spectrine et les protéines du cytosquelette associées à l'ankyrine), et un domaine régulateur (régulation de l'adhésion aux membranes des protéines et canaux ioniques transmembranaires) (Curran et Mohler, 2011).
- Un complexe glycoprotéique associé à la dystrophine: il contient la protéine du cytosquelette **dystrophine** (qui se lie aux filaments d'actine et assure l'organisation intracellulaire, la stabilité de la membrane, et la transmission des forces de contraction), et le complexe glycoprotéique associé à la dystrophine (**α et β sarcoglycanes, dystrobrevine, syntrophine**: se lie à la dystrophine et à la laminine). Les sarcoglycanes (α , β , γ , δ) s'associent pour former un complexe de glycoprotéines transmembranaires qui s'associe à la dystrophine dans le sarcolemme. Le δ -sarcoglycane est une protéine possédant un petit domaine intracellulaire, un domaine unique transmembranaire (hydrophobe) et un grand domaine extracellulaire correspondant à l'extrémité -COOH de la protéine.
- Les microfilaments sont composés **d'actine non-sarcomérique** et forment un réseau reliant le sarcomère (via l' α -actinine) aux costamères. Les microfilaments d'actine γ (non sarcomérique) relient également le sarcomère aux costamères.
- La **tubuline**, est présente dans le cytosol sous forme polymérisée (microtubules) ou non. La proportion de tubuline polymérisée et de tubuline non polymérisée va influencer la rigidité des liens entre les différents composants, et ainsi la contractilité de l'ensemble de la fibre musculaire.
- La **striatine** est une protéine codée par le gène *STRN*, qui se localise dans le disque intercalé, entre les myocytes. Elle agit en coordination avec les protéines du desmosome. Cette protéine est calcium-dépendante. Elle est impliquée dans la transduction des messages entre les cellules, notamment neuronales. La striatine est capable de se lier à

la calmoduline en fonction de la concentration en calcium (Ca^{2+}). Son rôle précis au sein du muscle cardiaque n'a pas encore été défini précisément (Meurs, 2010a).

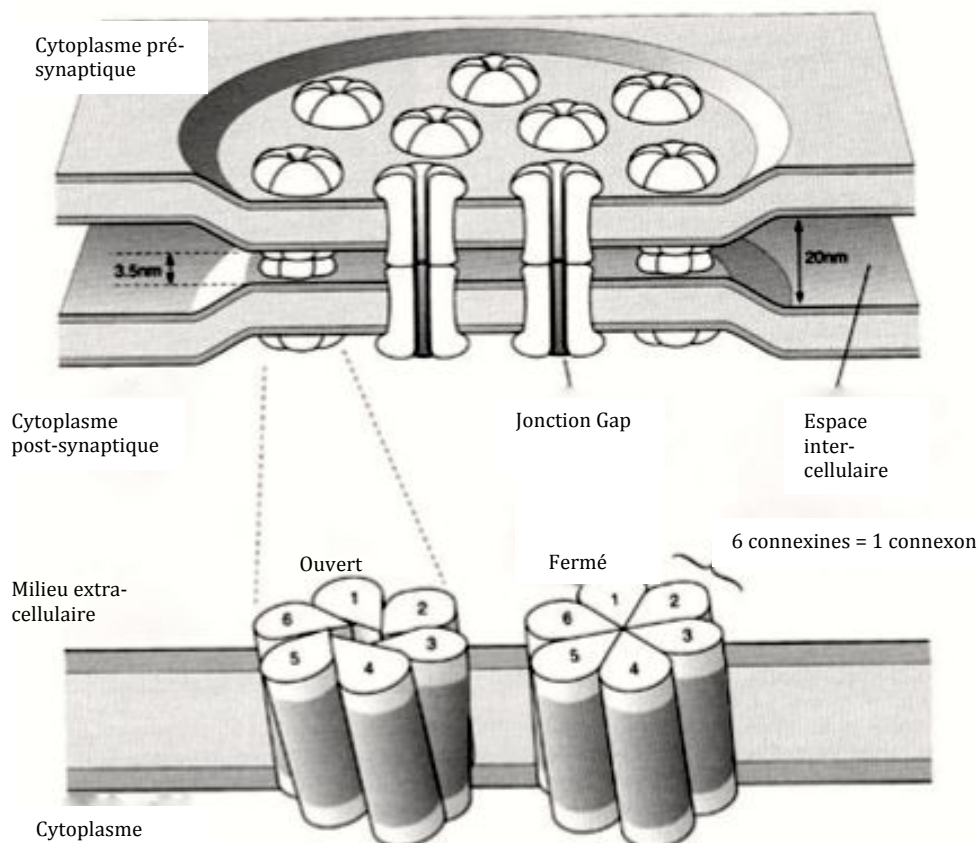
- La **vinculine** et la **métavinculine** sont deux protéines du cytosquelette codées par le gène *VCL*. La métavinculine est une variante de la vinculine ayant subi un épissage additionnel, qui s'exprime uniquement dans les muscles cardiaques, squelettiques et lisses, à la différence de la vinculine dont l'expression est ubiquitaire dans l'organisme. Ces deux protéines interagissent avec l'actine γ , l'actinine α , et la taline en formant un maillage de microfilaments permettant de relier le cytosquelette au sarcolemme. Elles sont également un moyen d'adhésion intercellulaire, par les jonctions adhérentes et les disques intercalés (Fatkin et Graham, 2002).
- La **protéine musculaire MLP (*Muscle LIM Protein*)** permet l'assemblage des protéines du cytosquelette le long des filaments d'actine. La protéine MLP est également appelée protéine 3 riche en cystéine (CSRP3 ou CRP3 : *cysteine and glycine-rich protein 3*). Par ailleurs, la protéine MLP est associée à de nombreux processus biologiques différents : la genèse des cellules musculaires cardiaques, la différenciation cellulaire, le remodelage des vaisseaux sanguins, la dépolymérisation de l'actine, la stabilité du cytosquelette la régulation de la contraction musculaire, la sensibilité au Ca^{2+} et la mécanosensibilité. Cette protéine se situe à la fois au niveau du disque Z, des bandes I du sarcomère, des costamères, du disque intercalé, du cytoplasme cellulaire et du noyau des myocytes. Les mécanismes par lesquels la protéine MLP agit sur l'ensemble du fonctionnement cardiaque sont variés et n'ont pas encore été élucidés dans leur ensemble (Buyandelger et al., 2011).

Enfin, les **intégrines** sont des protéines transmembranaires qui interagissent avec le collagène, la laminine et la fibronectine présentes dans la matrice extracellulaire.

La communication directe entre les cellules est permise par les **jonctions gap**, composées de sous-unités protéiques appelées connexines. Six connexines assemblées entre elles forment un héli-canal (connexon) dans la membrane plasmique d'une cellule, qui est capable de se lier à un connexon d'une cellule adjacente, afin de former une jonction gap complète (Figure 5).

Figure 5 : Représentation schématique d'une jonction gap (Sohl et Willecje, 2004).

Chaque connexon est une protéine transmembranaire formé de six connexines. Les connexons possèdent deux conformations : ouverte et fermée. La liaison entre deux connexons forme une jonction-gap qui permet d'interconnecter deux cellules entre elles.



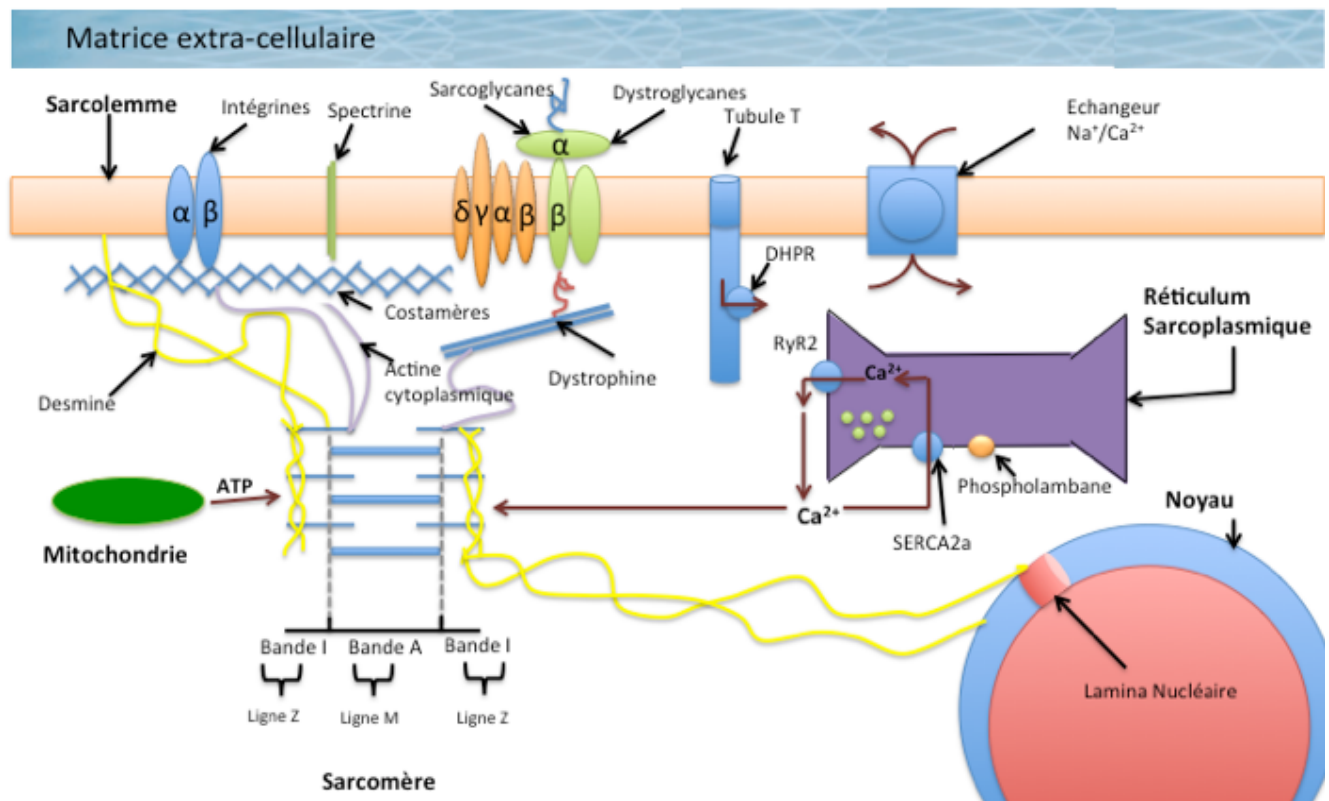
Les **connexines** impliquées dans le fonctionnement cardiovasculaire sont les protéines Cx37, Cx40, Cx43, Cx45. Les protéines « jonction-gap » permettent la continuité de la transmission du potentiel électrique à travers le myocarde. (Sohl et Willecje, 2004; Hyun et Filippich, 2006).

La **calmoduline** est une petite protéine sensible à la concentration intracellulaire en Ca^{2+} , qui interagit avec de nombreuses autres protéines. La liaison du Ca^{2+} à la calmoduline induit un changement de conformation de la calmoduline, permettant de nouvelles interactions avec d'autres protéines intracellulaires. La calmoduline module l'action d'un nombre important d'enzymes (protéines kinases, phosphatases), de canaux ioniques (canaux Na^+ , canaux K^+ , canal RyR2 : *ryanodine receptor 2*) en fonction de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} (Sorensen *et al.*, 2013).

Les différents acteurs de la cellule musculaire cardiaque sont représentés de façon schématique dans la Figure 6.

Figure 6 : Représentation schématique du fonctionnement moléculaire au sein de la cellule musculaire cardiaque et protéines impliqués (Fatkin et Graham, 2002).

Les myofibrilles sont en connexion avec de nombreuses structures cellulaires grâce à des protéines cytoplasmiques. Les filaments de desmine permettent de relier la bande Z des myofibrilles à la lamina nucléaire, mais également à la membrane plasmique du myocyte et aux protéines transmembranaires (costamères). L'actine cytoplasmique relie également la myofibrille aux protéines cytoplasmiques (dystrophine) et transmembranaires (costamères, spectrine, intégrine). Les différents organites cellulaires participent au cycle de contraction-relaxation des myofibrilles : la mitochondrie produit l'ATP utilisé lors de la contraction musculaire, et le réticulum sarcoplasmique régule la concentration intracellulaire en calcium via les récepteurs RyR2 et SERCA2a. La concentration intracellulaire en calcium est également régulée par des échangeurs transmembranaires de type $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$.



Le Tableau 3 fait la synthèse des gènes codant les principales protéines du cytosquelette et les caractéristiques des mutations associées chez l'homme.

Tableau 3 : Ensemble des gènes codant les principales protéines du cytosquelette et caractéristiques des mutations associées (Fatkin et Graham, 2002 ; Hyun et Filippich, 2006, Parvatiyar et al., 2012).

IC : insuffisance cardiaque ; MCH : myocardiopathie hypertrophique, MCD : myocardiopathie dilatée.

Protéine	Gène	Fonction et Mutations	<u>Myocardiopathies engendrées chez l'homme</u>
Desmine (filaments intermédiaires)	<i>DES (desmin)</i>	Mutations : Séquence codant l'extrémité -COOH du gène <i>DES</i> → myopathies des muscles squelettiques associées à une myocardiopathie restrictive, anomalies de conduction du signal électrique au sein du cœur, et dépôts de desmine intra-cytoplasmiques. Souris n'exprimant pas le gène de la desmine : désorganisation totale des fibrilles et des myocytes dégénérés : → dilatation progressive du ventricule et déficience de la contraction du cœur en systole.	L'absence ou la diminution d'expression de la desmine est à l'origine de MCD.
Vinculine et métavinculine	<i>VCL (vinculin)</i>	Mutations → désorganisation importante des disques intercalés, ainsi qu'une altération des systèmes de liaison entre les filaments d'actine, dépendants de métavinculine → symptomatologie de MCD.	L'absence ou la diminution de l'expression de vinculine et métavinculine est à l'origine de MCD.
Protéine MLP	<i>CSRP3 (cysteine and glycine-rich protein 3) = MLP</i>	Mutations : - Diminution de l'expression de la protéine LIM → MCD. - D'autres mutations du gène <i>MLP</i> sont également à l'origine de MCH. Déficit en MLP → MCH suivie d'une MCD et d'IC congestive.	Les mutations touchant le gène <i>MLP</i> sont à l'origine de MCH ou de MCD, selon la localisation de la mutation.
Ankyrine B	<i>ANK2 (ankyrin 2 neuronal)</i>	Mutations du domaine régulateur C-terminal → perte d'activité de l'ankyrine B : arythmies et maladies du nœud sinusal (bradycardies, arythmies sinusales, fibrillations atriales idiopathiques, tachycardies ventriculaires, morts subites).	Les mutations du gène <i>ANK2</i> sont à l'origine d'arythmies graves.

Dystrophine	<i>DMD</i> (<i>dystrophin</i>)	Expression du gène <i>DMD</i> fortement régulé par au moins 8 protéines spécifiques du tissu où s'exprime la protéine (permet d'obtenir différents transcrits suite à différents types d'épissage). Mutations : - Myopathies des muscles squelettiques (myopathie de Duchenne et de Becker), présentant parfois des myocardiopathies et des anomalies de conduction en phase avancée de la maladie. - MCD liées à l'X chez l'homme : les hommes atteints présentent des IC congestives relativement précocement. Les femmes porteuses de cette mutation sur un de leur chromosome X peuvent développer une forme tardive de MCD. Mutation du domaine codant les exons contenant le -NH₂ terminal de la protéine → les signes cliniques de la maladie seront plus graves que lorsque la mutation se situe dans le domaine central de la protéine.	Les mutations du gène <i>DMD</i> sont à l'origine de MCD.
Sarcoglycanes	<i>SGCD</i> (δ-sarcoglycane), <i>SGCA</i> (α-sarcoglycane), <i>SGCB</i> (β-sarcoglycane)	Mutations faux-sens du gène <i>SGCD</i> → MCD avec une prévalence de mort subite à un âge précoce importante.	Les mutations des gènes codant les sarcoglycanes sont à l'origine de MCD.
Connexines	<i>Cx40</i> , <i>Cx43</i> , <i>Cx45</i>	Mutations → anomalies de la conduction du signal électrique (blocs atrio-ventriculaires, durée du QRS augmentée, tachycardie supra-ventriculaire).	Les mutations de ces gènes sont à l'origine d'arythmies graves.
Calmoduline	<i>CALM 1</i> , <i>CALM2</i> , <i>CALM3</i>	Mutations → anomalies de la conduction du signal électrique.	Les mutations de ces gènes sont à l'origine d'arythmies graves.

2. Mécanisme de la contraction musculaire du cœur et gènes impliqués

2.1. Le mécanisme de conduction du potentiel électrique

La contraction musculaire cardiaque est engendrée par l'arrivée d'un signal électrique au cardiomyocyte, et à la dépolarisation de la cellule. Ce signal électrique provient du nœud sinusal, structure capable de se dépolariser de manière spontanée, situé dans la paroi supérieure de l'oreillette droite du cœur, et se propage dans l'ensemble du myocarde (Figure 7).

La conduction électrique se fait grâce aux jonctions-gap et aux canaux ioniques. Ces structures sont codées par des gènes, et leur expression est modulée par des facteurs de transcriptions (Tableau 4). Lors de défauts de conduction ou de défauts de repolarisation d'origine génétique ou congénitale, les gènes codant les jonctions-gap, les canaux ioniques et les gènes codant les facteurs de transcriptions seront altérés par des mutations (Hyun et Filippich, 2006). En fonction du gène affecté, le type d'arythmie sera différent.

Les mutations des gènes codant des canaux K^+ entraînent une perturbation de la repolarisation et ainsi la réentrée du K^+ et donc des épisodes de tachycardie ventriculaire. La durée de l'intervalle QT sera augmentée (Figure 8 E) (Hyun et Filippich, 2006).

Les mutations des gènes codant des canaux Na^+ seront également à l'origine d'anomalies de conduction du signal électrique (Hyun et Filippich, 2006).

Des anomalies à l'électrocardiogramme (ECG) seront visibles lors de mutations des gènes codant les protéines « jonction-gap » ou les canaux ioniques, ou lors de mutations des gènes codant des facteurs de transcription modifiant l'expression des gènes codant les jonctions gap ou les canaux ioniques. Les anomalies à l'ECG seront des blocs atrio-ventriculaires, et une augmentation de la durée de l'intervalle PR ainsi que de la durée du QRS (Figure 8D), ou une augmentation de la durée de l'intervalle QT (Figure 8E), voire des tachycardies ventriculaires (Hyun et Filippich, 2006).

Figure 7 : Schématisation des différentes protéines impliquées dans la conduction du signal électrique cardiaque (A), ainsi que des potentiels d'action membranaires (B et C) (Hyun et Filippich, 2006).

MinK : canal KCNE1 ; MiRP1 : canal KCNE2 ; Kir2.1 : canal KCNJ2 ; Na⁺ : Sodium ; K⁺ : Potassium ; Ca²⁺ : Calcium.

Lorsque le signal électrique arrive au ventricule (Figure 7 B), la dépolarisation de la membrane cellulaire du myocyte est initiée par une entrée rapide de Na⁺ dans le myocyte (I_{Na} : Courant entrant de Na⁺ : canal SCN5A). Puis une repolarisation s'initie avec une phase rapide : il s'agit de la fermeture des canaux Na⁺ et de l'activation des canaux responsables de la sortie de K⁺ (I_{t0} : Courant transitoire sortant de K⁺ : canal KChIP2 : Kv Channel Interacting Protein 2 : KCNIP2). Suite à cette phase rapide a lieu un plateau induit par une entrée de Ca²⁺ (I_{CaL} : Courant lent entrant de Calcium) qui s'ajoute à la sortie de K⁺ (I_{Kr} (Courant sortant retardé et rapide de K⁺ : canaux HERG, Potassium Voltage-Gated Channel, Subfamily H (Eag-Related) et KCNE2, potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 2) et I_{Ks} (Courant sortant retardé et lent de K⁺ : canaux KCNQ1, potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1 et KCNE1 : potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 1)). La troisième phase de repolarisation est caractérisée par l'association de plusieurs courants sortant de K⁺ (I_{Kr} et I_{Ks}), auxquels s'ajoute un troisième courant sortant I_{Kl} permis par le canal KCNJ2 (potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2). Le potentiel d'action normal (Figure 7C) peut être mesuré par électrocardiographie.

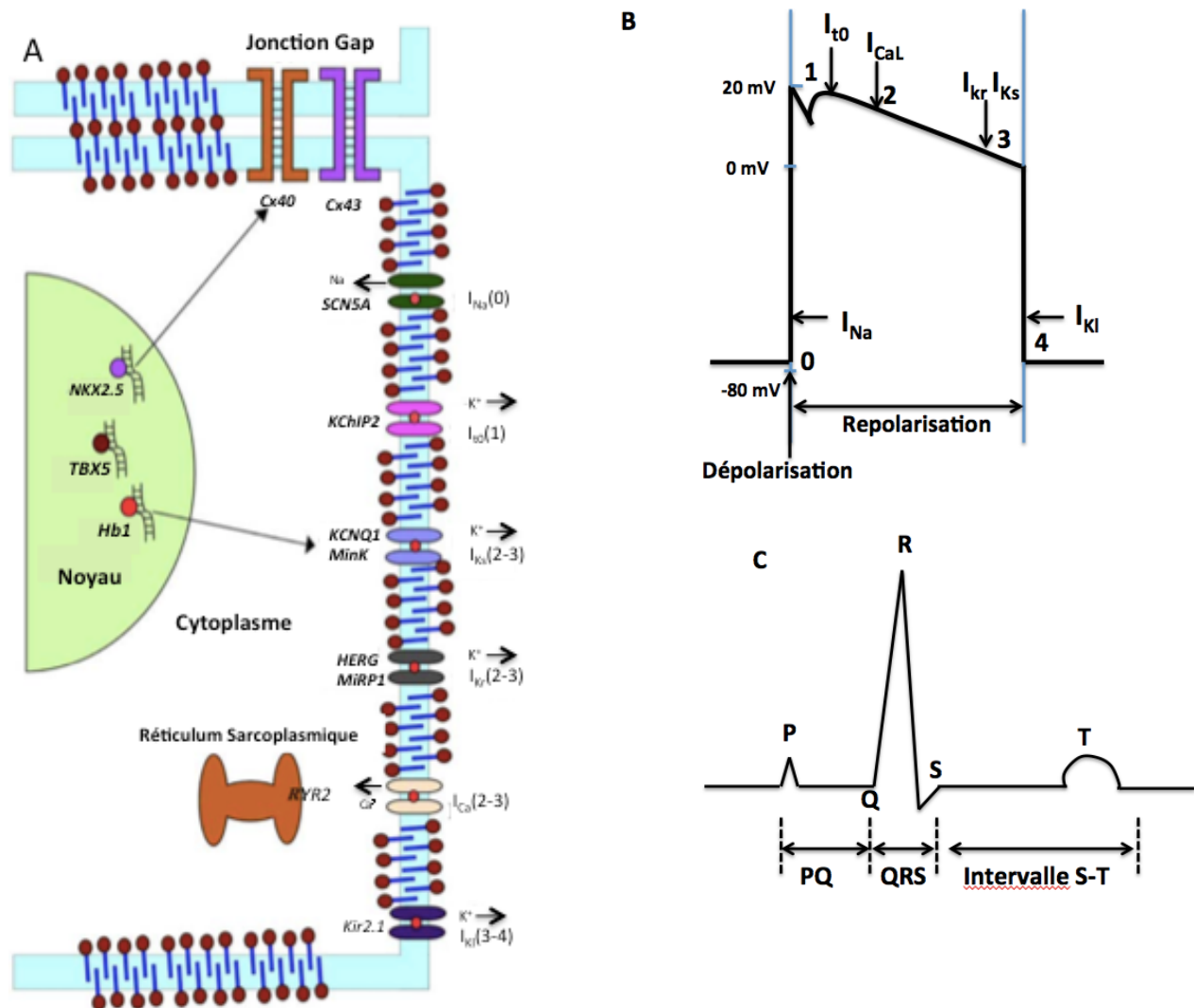
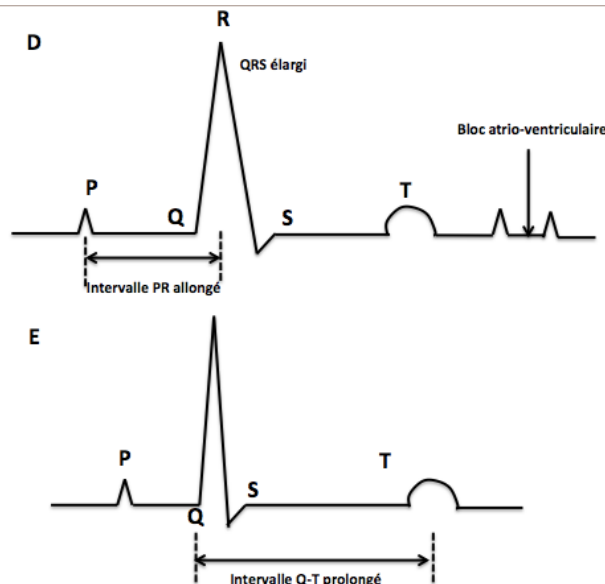


Tableau 4 : Ensemble des gènes codant les protéines impliquées dans le signal électrique et caractéristiques des mutations associées (Hyun et Filippich, 2006, National Library of Medicine, 2014).

Type de structure	Protéine	Gène	Fonction et mutations
Canaux K ⁺	KVLQT1 : médiation du courant I _{Ks}	<i>KCNQ1 (potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1)</i>	Fonction : la protéine KCNE1 s'associe avec la protéine KVLQT1 pour former un canal K ⁺ (courant I _{Ks}) responsable de la repolarisation des cellules cardiaques (Sanguinetti <i>et al.</i> , 1996). La protéine KVLQT1 code pour la sous-unité α du canal K ⁺ (formant le pore transmembranaire) (Aidery <i>et al.</i> , 2012). - Mutations du gène KCNQ1 (perte de fonctionnalité) → durée de repolarisation plus longue et syndrome « long QT ». - Mutation du gène KCNQ1 (augmentation de l'activité de la protéine KVLQT1) → durée des intervalles QT réduite et fibrillation atriale (Aidery <i>et al.</i> , 2012).
	KCNE1, médiation du courant I _{Ks}	<i>MinK (KCNE1 : potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 1)</i>	Protéine KCNE1 : forme la sous-unité β (régulatrice) du canal K ⁺ Mutations → arythmies.
	KCNH2, médiation du courant I _{Kr}	<i>hERG (potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 2)</i>	Protéine KCNH2 : forme la sous-unité α (pore transmembranaire) du canal K ⁺ . Gène muté dans le syndrome d'allongement de la durée QT (Barhanin <i>et al.</i> , 1996).
	KCNE2, médiation du courant I _{Kr}	<i>MiRP1 (KCNE2 : potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 2)</i>	Protéine KCNE2 : forme la sous-unité β (régulatrice) du canal K ⁺ . S'assemble avec une sous-unité α (hERG). Mutation → syndrome long QT, arythmies (Abbott, 2013).
	KCNJ2, médiation du courant I _{K1}	<i>Kir2.1 (KCNJ2 : potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2)</i>	Mutations → syndrome d'Andersen-Tawil (arythmies, paralysies musculaires), syndrome du QT court, fibrillation atriale.
	KCNIP2, médiation du courant I _{to}	<i>KChIP2 (Kv Channel Interacting Protein 2 = KCNIP2)</i>	Protéine KCNIP2 : forme la sous-unité β (régulatrice) (possède un domaine de liaison au Ca ²⁺). S'assemble avec la sous-unité α Kv4.3 (pore transmembranaire).
Canaux Na ⁺	Canal Na ⁺	<i>SCN5A (sodium channel, voltage-gated, type V, alpha subunit)</i>	Mutation du gène <i>SCN5A</i> → anomalies identiques aux conséquences des mutations des gènes codant les canaux K ⁺ (Hyun et Filippich, 2006).

Figure 8 : Schématisation des modifications du potentiel d'action suite à la mutation de certains gènes codant les canaux ioniques : intervalle PR allongé (D) et intervalle QT allongé (E) (d'après Hyun et Filippich, 2006).

Des anomalies à l'électrocardiogramme (ECG) seront visibles lors de mutation des gènes codant les protéines « jonction-gap » ou les canaux ioniques, ou lors de mutation des gènes codant des facteurs de transcription modifiant l'expression des gènes codant les jonctions gap ou les canaux ioniques. Les anomalies à l'ECG seront des blocs atrio-ventriculaires, et une augmentation de la durée de l'intervalle PR ainsi que de la durée du QRS (D) ou une augmentation de la durée de l'intervalle QT (E) voire des tachycardies ventriculaires.



2.2. L'interaction actine-myosine

Le modèle actuel de génération des forces de contraction se base sur le glissement relatif des filaments épais de myosine par rapport aux filaments fins d'actine. Cela est permis par l'alternance entre liaison et détachement des têtes de myosine aux filaments d'actine.

La tête de la myosine est composée de la protéine MHC (*myosin, heavy chain*, chaîne lourde de la myosine). Chaque tête de myosine comporte un domaine de fixation à l'actine ainsi qu'un site ATPase qui catalyse la réaction de déphosphorylation de l'ATP (adénosine triphosphate).

La contraction musculaire est directement dépendante de la quantité d'énergie présente dans la cellule, sous forme d'ATP (Figure 9).

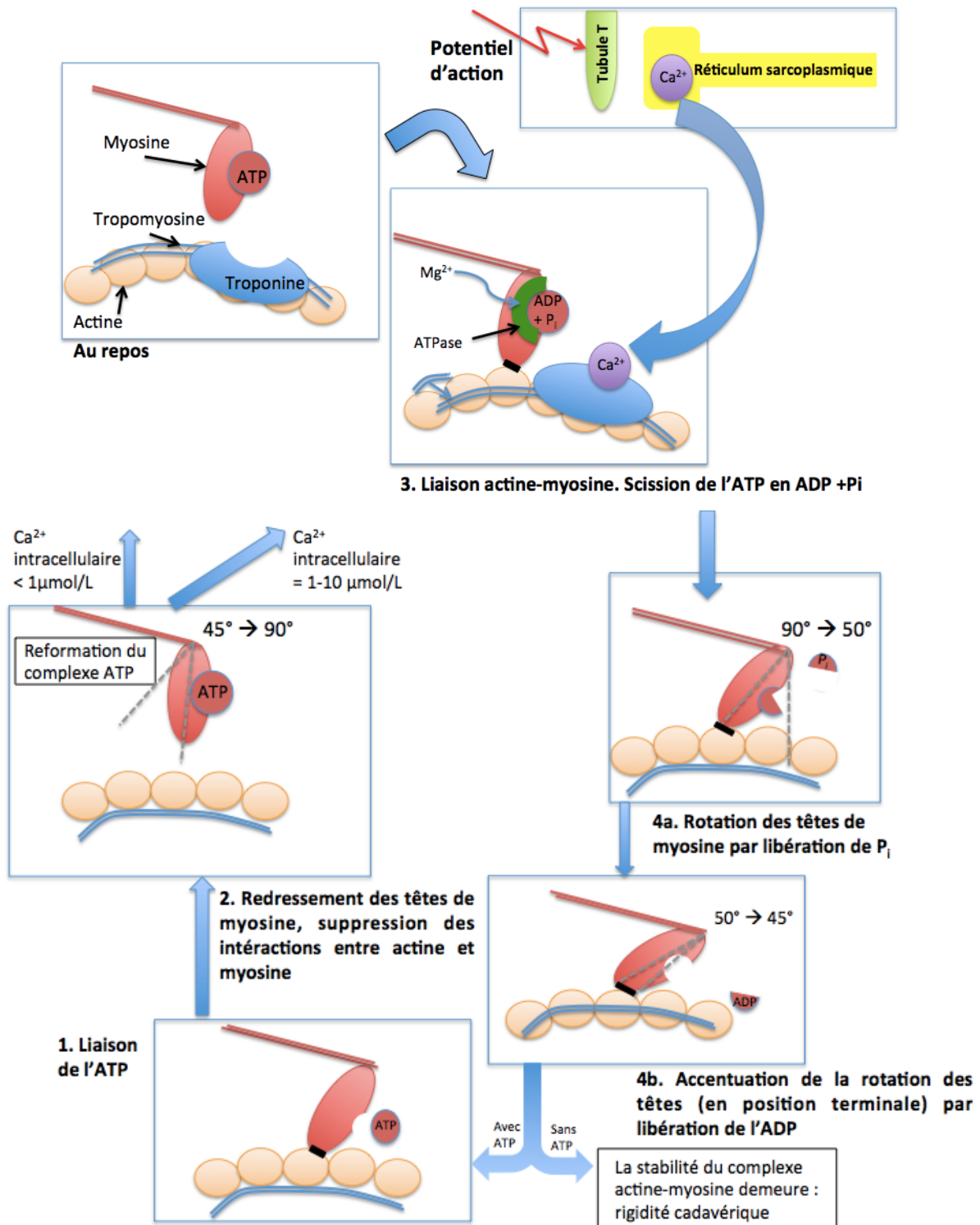
Lorsqu'elle est fixée à l'actine, la tête de la myosine est orientée avec un angle de 45° . La fixation d'ATP au site ATPase de la tête de myosine entraîne la séparation de l'actine et de la myosine, et la formation d'un ADP (Adénosine Di-Phosphate) et un phosphate inorganique P_i , ancrés au site ATPase (Figure 9). Une fois séparée de l'actine, la tête de myosine prend un angle de 90° . Le complexe « tête de myosine-ADP- P_i » peut alors se fixer sur un filament d'actine adjacent, la force de liaison étant alors assez faible. La libération de l'ADP et du P_i hors du site ATPase entraîne ensuite une modification de l'angle de la tête de myosine qui redevient de 45° et ainsi une augmentation de la force de fixation.

Ce cycle résulte en la progression de la myosine par rapport à l'actine, menant à un raccourcissement global de la fibre musculaire (Fatkin et Graham, 2002).

Figure 9 : Schématisation des différentes étapes du cycle de contraction cardiaque et des protéines impliquées (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

ADP : Adénosine di-phosphate ; P_i : phosphate inorganique ; ATP : Adénosine tri-phosphate.

La fixation d'une molécule d'ATP sur le site ATPase de la tête de myosine fixée à l'actine (1) entraîne une modification de l'orientation de la tête de myosine, et ainsi sa séparation de l'actine (2). La tête de la myosine prend alors un angle de 90° . Lorsque la concentration intracellulaire en calcium est suffisante, le calcium se fixe sur la troponine, entraînant un déplacement de la troponine qui libère un site de fixation de la myosine sur l'actine. Le complexe « tête de myosine-ATP » se fixe sur un filament d'actine adjacent avec une force de liaison faible (3). Lors de cette fixation, l'ATP est dégradé en ADP et P_i (4a) puis de l'ADP (4b) accentue la force de liaison de la tête de myosine à l'actine par la modification de son angle d'inclinaison par rapport au filament d'actine.



2.3. La régulation par le complexe troponine-tropomyosine

Les contractions et relaxations musculaires sont régulées par la concentration intracellulaire en Ca^{2+} , *via* le complexe troponine/tropomyosine. Ce complexe hétérodimère régulateur de la liaison au Ca^{2+} est composé de tropomyosine (reliée aux filaments d'actine) et de troponine T, I, C (Figure 3 et Figure 4). La troponine T est la principale troponine reliée à la tropomyosine, et dans une moindre mesure, la troponine I est également liée à la tropomyosine. La troponine C est ancrée à la fois à la troponine T et à la troponine I, et présente deux domaines de liaison à l'actine.

Le complexe de troponines (C, I et T) participe à la transduction du signal de contraction à l'ensemble du filament fin d'actine.

La contraction musculaire est inhibée lors de la diastole, par la liaison de la troponine I à la tropomyosine, empêchant ainsi tout mouvement du filament fin d'actine.

Lors de la systole, l'augmentation de la concentration en Ca^{2+} intracellulaire permet la fixation du Ca^{2+} à la troponine C, qui entraîne un changement de conformation fragilisant l'interaction entre la troponine I et la tropomyosine, et renforçant les interactions entre la troponine I et C. Cette modification de morphologie permet un déplacement du complexe troponine-tropomyosine sur le filament d'actine, libérant ainsi des sites de liaison de la myosine à l'actine. La présence de nouveaux sites de liaison de la myosine à l'actine permet par conséquent une contraction musculaire, dépendante de la concentration en ATP. Le filament d'actine n'est alors plus dans un état inhibé, les mouvements entre l'actine et la myosine sont alors facilités et la systole peut avoir lieu.

Si la concentration en Ca^{2+} intracellulaire diminue, le Ca^{2+} se dissocie de la troponine C, ceci ayant pour conséquences un état relâché du muscle (diastole) (Fatkin et Graham, 2002; Parvatiyar *et al.*, 2012)

La sensibilité au Ca^{2+} peut être modulée par certaines protéines : la phosphorylation de la troponine I par la protéine kinase A permet de diminuer la sensibilité de la troponine au Ca^{2+} .

2.4. Le rôle du Calcium

Le rôle du Ca^{2+} a été mis en évidence lors de l'étude de la physiopathologie des IC congestives (Sleeper *et al.*, 2010).

Les mouvements intra- et extracellulaires de Ca^{2+} sont fondamentaux pour le bon fonctionnement de la contraction musculaire : ils permettent en effet le relâchement de la troponine et ainsi le glissement de la myosine par rapport à l'actine, ceci entraînant une contraction musculaire (Figures 6 et 10).

Deux transporteurs situés dans la membrane du réticulum sarcoplasmique permettent les mouvements de Ca^{2+} entre le cytoplasme du myocyte et le réticulum sarcoplasmique : la pompe SERCA2a (*ATPase, Ca++ Transporting, Cardiac Muscle, Slow Twitch 2* ; flux de Ca^{2+} du cytoplasme vers le réticulum sarcoplasmique) et le canal RyR2 (flux de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique vers le cytoplasme).

Lors du cycle cardiaque, le Ca^{2+} est transporté du cytoplasme du myocyte au réticulum sarcoplasmique cardiaque, par la **pompe transmembranaire Ca^{2+} /ATPase nommée SERCA2a**. L'activité de la pompe SERCA2a est contrôlée par la protéine PLN (phospholambane, codée par le gène *PLN* : *phospholamban*) qui, lorsqu'elle est phosphorylée, active la pompe SERCA2a (et donc favoriser la relaxation musculaire), et l'inhibe lorsqu'elle est déphosphorylée. La phospholambane est une petite protéine transmembranaire de 52 acides

aminés qui module indirectement le mécanisme de contraction/relaxation cardiaque, en régulant la concentration en Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique. Lorsque l'activité de la protéine SERCA2a augmente, cela permet l'augmentation de la concentration en Ca^{2+} à l'intérieur du réticulum sarcoplasmique, et ainsi l'augmentation de la vitesse de relaxation du myocarde (Sleeper *et al.*, 2010).

Des protéines comme la protéine S100A1 (*S100 calcium binding protein A1*), sensible au Ca^{2+} , sont capables de stimuler l'activité de la protéine SERCA et également de diminuer le relargage de Ca^{2+} par les réticulums sarcoplasmiques, ceci ayant pour conséquence une augmentation significative de la quantité de Ca^{2+} dans les réticulums sarcoplasmiques des cellules du myocarde (Sleeper *et al.*, 2010).

Le **récepteur cardiaque à la ryanodine RyR2** est codé par le gène *RyR2*. Ce récepteur est impliqué dans le relargage du Ca^{2+} *via* un canal calcique qui contrôle la libération du Ca^{2+} stocké dans le réticulum sarcoplasmique, ceci permettant le couplage excitation-contraction.

Les mutations du gène *RyR2* sont responsables, chez l'homme, de l'ARVC (Hyun et Filippich, 2006). Les mutations de ce gène sont en effet à l'origine d'instabilité électrique, de dysfonctionnement de la contractilité, d'IC congestive, et de mort subite (Meurs *et al.*, 2006).

La fonction de ce canal est partiellement modulée par plusieurs protéines :

- La **protéine calstabile 2** (codée par le gène *FKBP1B* : *FK506 Binding Protein 1B*, 12.6 KDa) permet de stabiliser les sous-unités de la protéine RyR2 en position fermée et évite ainsi une libération de Ca^{2+} sarcoplasmique pendant la diastole, ainsi que des arythmies (tachycardie ventriculaire). Il existe une molécule de calstabile 2 sur chacune des quatre sous-unités des canaux RyR2 (Oyama *et al.*, 2008).
- La **protéine transmembranaire triadine**, reliée au récepteur RyR2, est également une protéine régulatrice du récepteur RyR2, sensible à la concentration en Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique. La triadine (gène *TRDN*) est en interaction directe avec la calsequestrine-2 (gène *CASQ2*). Lorsque la concentration en Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique est faible, la triadine est liée à la calsequestrine et son action stimulatrice du canal RyR2 est inhibée. Lorsque la concentration en Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique est élevée, la triadine perd son affinité pour la calsequestrine, ce qui stimule l'ouverture du canal RyR2. Ce sont les interactions entre la triadine et la calsequestrine qui permettent d'initier et de coordonner l'ouverture des canaux RyR2 en systole et leur fermeture en diastole.

Une dépolarisation de la membrane du myocyte (potentiel d'action) active un canal Ca^{2+} -voltage dépendant, permettant une entrée de Ca^{2+} extracellulaire dans le cytoplasme du myocyte et augmentant ainsi la concentration intracellulaire de Ca^{2+} .

Cette augmentation intracellulaire de Ca^{2+} va stimuler la libération de Ca^{2+} par le réticulum sarcoplasmique. En effet, les récepteurs à la ryanodine et les récepteurs au 1,4,5 triphosphate sont capables d'induire la libération du Ca^{2+} stocké dans le réticulum sarcoplasmique lorsque la concentration intracellulaire en Ca^{2+} augmente. La contraction cardiaque est associée à la libération de Ca^{2+} par le réticulum sarcoplasmique dans le cytoplasme de la cellule musculaire, à travers la pompe Ca^{2+} -ATPase (SERCA2a) (Stabej *et al.*, 2005).

Les canaux transmembranaires responsable du flux de Ca^{2+} extracellulaire vers le cytoplasme du myocyte sont composés d'un récepteur à la dihydropyridine (DHP) et de tubules de type T.

L'augmentation de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} est à l'origine de la contraction musculaire.

Lors de la relaxation musculaire, le Ca^{2+} intracellulaire est réabsorbé par le réticulum sarcoplasmique grâce à la pompe Ca^{2+} -ATPase SERCA2a et est parallèlement excrété dans le

milieu extracellulaire par l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, la pompe du sarcolemme Ca^{2+} -ATPase, et le canal Ca^{2+} mitochondrial (Figure 10).

Figure 10 : Cycle du calcium lors de la contraction des myocytes (Sorensen et al., 2013).

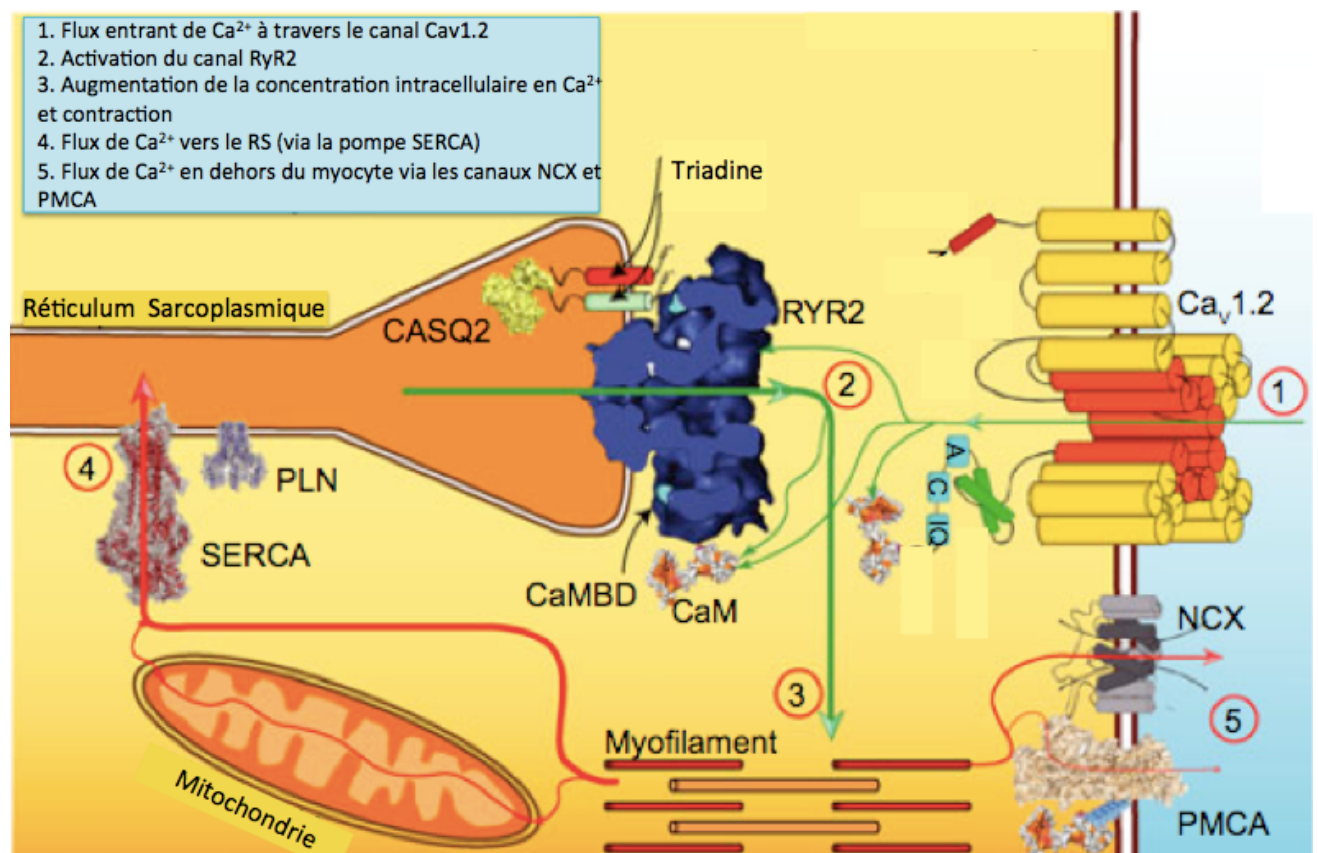
Cav1.2 : Canal Ca^{2+} transmembranaire ; RYR2 : récepteur à la ryanodine ; SERCA : canal SERCA ; RS : Réticulum Sarcoplasmique ; NCX : échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$; PMCA : Pompe Ca^{2+} ATPase de la membrane plasmique ; CASQ2 : Calsequestrine-2 ; PLN : Phospholambane ; CaM : Calmoduline ; CaMBD : Domaine de liaison à la Calmoduline.

1 : entrée de calcium extracellulaire ;

2 : relargage de calcium par le réticulum sarcoplasmique via le canal RYR2 ;

3 : l'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium entraîne la contraction des myofilaments ;

4 : le calcium cytoplasmique est recyclé dans le réticulum sarcoplasmique (via le canal SERCA), l'espace extracellulaire (via les canaux NCX et PMCA) et les mitochondries



2.5. Les autres facteurs de régulation

Différentes protéines présentent, par leur action directe ou indirecte sur le muscle cardiaque, un effet régulateur de son mécanisme de contraction.

La **chaîne légère de la myosine (MLC)** et la **protéine C de liaison à la myosine (MYBPC3)** sont des éléments régulateurs de la contraction musculaire. Les protéines MLC et MYBPC3 se lient à la base de la tête de la myosine et influent ainsi la cinétique de la liaison à l'actine, et par conséquent la contraction (Fatkin et Graham, 2002).

Les protéines du groupe **tafazzine** participent également à la régulation du couplage excitation-contraction. Le phénomène de transcription / traduction de l'ADN du gène *TAZ*

(*tafazzin*) diffère selon les tissus, et est à l'origine d'une dizaine de protéines tafazzines différentes. Ces protéines possèdent deux domaines fonctionnels : un segment hydrophobe (NH₂ terminal), responsable de l'ancrage membranaire, ainsi qu'un domaine hydrophile formant une boucle, responsable des interactions aux autres protéines. Les tafazzines sont situées dans les mitochondries et sont impliquées dans le métabolisme lipidique (Fatkin et Graham, 2002).

Les **lamines A et C** (codées par le gène *LMNA*) sont des protéines fondamentales de la lamina nucléaire, de type filament intermédiaire. Elles se situent du côté nucléoplasmique de la membrane nucléaire. Ces protéines ont un rôle structural au sein de la membrane nucléaire et de la chromatine, ainsi qu'un rôle de régulation de l'expression des gènes. L'émérine (gène *EMD* : *emerin*) est également une protéine de la lamina nucléaire, impliquée dans le contrôle de l'activité nucléaire et de la division cellulaire, dont le bon fonctionnement est indispensable au mécanisme de contraction des myocytes (Fatkin et Graham, 2002).

La **protéine kinase AMP-dépendante (AMPK)** est une protéine du métabolisme ayant un effet sur le fonctionnement cardiaque, en agissant sur le statut énergétique des cellules musculaires par l'inactivation des enzymes-clés de la synthèse d'acides gras et de cholestérol lorsque la cellule est déficiente en énergie (AMP élevé et ATP bas) (Hardie et Carling, 1997). L'AMPK est une protéine possédant une sous-unité catalytique (α) et deux sous-unités régulatrices (β et γ). La sous-unité γ est présente sous son isoforme $\gamma 2$ dans le cœur, codée par le gène *PRKAG2* (*protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit*). Ce gène est transcrit de différentes manières en fonction de la présence ou non d'un stress métabolique (*PRKG2a* ou *PRKG2b*). L'AMPK est en effet une protéine sensible au stress métabolique : cette protéine répond à une diminution de la concentration en ATP intracellulaire en régulant les différentes voies métaboliques consommatrices d'ATP. En absence de stress métabolique, l'activité de l'AMPK est auto-inhibée (blocage du site catalytique par une auto-inhibition de la sous-unité α). En cas de stress métabolique ou d'hypoxie, lorsque le ratio AMP/ATP augmente, l'AMPK est activée et permet ainsi le maintien des sources énergétiques nécessaires au fonctionnement des myocytes et au couplage excitation-contraction. L'AMPK a également un rôle de facteur de transcription, régulant le métabolisme du glucose (Fatkin et Graham, 2002).

De nombreux facteurs de transcription ont également un effet sur la transcription des gènes codant les protéines impliquées dans le mécanisme de couplage excitation-contraction. Ils permettent de moduler l'expression de ces protéines, influant à plus long terme sur les mécanismes de couplage excitation-contraction. Ces facteurs de transcription sont également fondamentaux lors de la cardiomorphogenèse (Fatkin et Graham, 2002).

Le **génome mitochondrial** code un ensemble de gènes structuraux codant eux même des protéines impliquées dans la phosphorylation oxydative (la respiration), ainsi que pour des ARN de transfert et des ARN ribosomiaux. L'ADN mitochondrial est à transmission uniquement maternelle (Fatkin et Graham, 2002).

Les principaux gènes codant des facteurs de régulation et les mutations observées chez l'homme sont détaillés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Ensemble des gènes codant des facteurs de régulation du mécanisme de couplage excitation-contraction des myocytes (Hardie et Carling, 1997, Kasahara *et al.*, 2000, Fatkin et Graham, 2002, Hyun et Filippich, 2006).

ADN : Acide Desoxyribo-Nucléique ; MCD : Myocardiopathie Dilatée ; MCH : Myocardiopathie Hypertrophique.

<u>Type de structure</u>	<u>Protéine</u>	<u>Gène</u>	<u>Fonction et mutations chez l'homme</u>
<u>Protéines du métabolisme cellulaire</u>	Protéine kinase AMP-dépendante	<i>PRKAG2</i> (<i>protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit</i>)	Mutations : - Majoritairement des mutations faux-sens. - Une mutation du gène <i>PRKAG2</i> à l'origine de blocs atrio-ventriculaires, du syndrome de Wolff-Parkison-White, de fibrillation atriale et/ou de MCD.
	Tafazzine	<i>TAZ</i> (<i>tafazzin</i>)	Mutation : - Syndrome de Barth et MCD précoce (dès l'enfance). - Anomalies engendrées : hypertrophie ventriculaire, dilatation ventriculaire et/ou fibroélastose endocardiale, mitochondries anormales.
<u>Protéines du noyau des myocytes</u>	Lamines A et C	<i>LMNA</i> (<i>lamin A/C</i>)	Mutations : - Anomalies de conduction du signal électrique et MCD. Hypothèse principale : perturbation de la structure nucléaire avec altération de la fonction du noyau et de la transcription (les lamines se fixent normalement sur la chromatine et certains facteurs de transcription). Structure nucléaire perturbée : noyau plus sensible aux processus dégénératifs (apoptose ou stress biomécanique (contractions répétitives, demande importante en énergie)). - Parfois également des myopathies des muscles squelettiques (Dystrophie musculaire d'Emery-Dreyfus et Dystrophie musculaire des ceintures de type 1B).
	Emerine	<i>EMD</i> (<i>emerin</i>)	Mutations : faiblesses musculaires, blocs de conduction cardiaque et MCD.
ADN Mitochondrial			Des mutations de l'ADN mitochondrial sont à l'origine de maladies systémiques incluant notamment des MCD.

3. Pathogenèse des myocardiopathies primaires chez l'homme

La pathogenèse des myocardiopathies primaires est majoritairement associée à quatre phénomènes (Fatkin et Graham, 2002; Hyun et Filippich, 2006) :

- Un **défait de puissance de contraction du myocarde**, causé par des mutations des gènes codant les protéines sarcomériques ou les protéines du cytosquelette. Les mutations des protéines sarcomériques ont pour conséquence une augmentation des besoins en Ca^{2+} .
- Un **déficit en énergie pour le myocarde**, causé par des mutations des gènes codant les protéines régulant l'ATP intracellulaire, ou des mutations de l'ADN mitochondrial. Par exemple, une mutation du gène codant l'AMP-kinase va entraîner une diminution en ATP disponible.
- Une **insuffisance en Ca^{2+} disponible ou une sensibilité des fibres musculaires au calcium diminuée** en raison de mutations au sein des gènes codant des protéines responsables de l'homéostasie du Ca^{2+} .
- Une **augmentation de l'activité du système nerveux orthosympathique et du système rénine-angiotensine-aldostérone**.

Un nombre important de mutations a été mis en évidence, mais dans de nombreux cas de MCD ou MCH, aucune des mutations connues n'a pu être mise en évidence.

3.1. Pathogenèse de la myocardiopathie hypertrophique chez l'homme

3.1.1. Physiopathologie de la myocardiopathie hypertrophique

La MCH est caractérisée par un défaut de génération des forces de contraction, associé à une dysfonction diastolique (Fatkin et Graham, 2002; Hyun et Filippich, 2006).

On considère en général que la physiopathologie de la MCH est celle d'une décompensation suite au dysfonctionnement du sarcomère qui agit comme un stimulus du mécanisme d'hypertrophie.

Le processus d'hypertrophie du ventricule gauche est initié par des facteurs intrinsèques ou extrinsèques au muscle cardiaque, qui sont à l'origine d'une cascade de réactions intracellulaires regroupées sous le nom « réponse hypertrophique » (Fatkin et Graham, 2002) :

- **Facteurs extrinsèques au muscle cardiaque** : peptide vasoactifs (angiotensine II, endothéline-1), agonistes α -adrénergiques (norépinephrine, épinéphrine, phényléphrine, ...), activateurs de la protéine kinase C (tumeurs sécrétant des esters de phorbol), facteurs de croissance peptidiques (facteur de croissance insuline-like, facteur de croissance des fibroblastes), cytokines (cardiotrophine 1, ...), métabolites de l'acide arachidonique (prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$, ...), un étirement mécanique ou le contact cellulaire.
- **Facteurs intrinsèques au muscle cardiaque** : augmentation de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} , action de la protéine hétérodimère G_q , protéines C activées, kinases, phosphatases et facteurs de transcription.

L'augmentation en Ca^{2+} intracellulaire est un mécanisme important pour la physiopathologie de l'hypertrophie, correspondant à un dysfonctionnement du sarcomère. L'augmentation en Ca^{2+} intracellulaire active la calcineurine : cette protéine intracellulaire déphosphoryle les facteurs de transcription NFAT3 (*Nuclear Factor of Activated T cells*), entraînant alors une hypertrophie du cœur, par action synergique de ces facteurs de transcription sur l'expression de gènes cardiaques embryonnaires.

De plus, une anomalie de l'équilibre énergétique de la cellule est également une des causes possibles du mécanisme d'hypertrophie. En effet, lors de MCH, le métabolisme cellulaire est très fréquemment altéré. L'altération du métabolisme peut avoir deux origines :

- Elle peut être secondaire à l'ischémie du myocarde en raison d'un besoin plus élevé en dioxygène pour le myocarde hypertrophié.
- Elle peut être d'origine primaire, suite à la mutation de gènes codant les protéines du métabolisme cellulaire. Si une protéine contractile du sarcomère mutée cause un besoin énergétique plus élevé pour une même contraction, la cellule musculaire se retrouvera en déficit énergétique, qui est également un stimulus de la « réponse hypertrophique ». Dans le cas de la mutation du gène *PRKAG2*, il a été démontré chez l'homme qu'une anomalie du stockage énergétique dans la cellule est à l'origine de la « réponse hypertrophique ».

La « réponse hypertrophique » se caractérise par plusieurs phénomènes (Fatkin et Graham, 2002) :

- L'augmentation de la masse du myocarde ;
- L'altération des interactions entre les myocytes et les autres cellules cardiaques ainsi qu'avec les composants extracellulaires du myocarde ;
- La modification de l'expression des gènes exprimés dans le cœur ;
- Des processus d'apoptose.

3.1.2. L'origine génétique de la myocardiopathie hypertrophique chez l'homme

Chez l'homme, le mode de transmission de la MCH est de type autosomique dominant, avec une expressivité variable et une pénétrance liée à l'âge, parfois incomplète.

Les premiers gènes à l'origine de la MCH chez l'homme ont été mis en évidence en 1990 par l'approche « gène candidat ». Plus de 1400 mutations à l'origine de la MCH sont actuellement connues chez l'homme. Ces mutations sont en majorité des substitutions d'un acide aminé par un autre (Maron *et al.*, 2012).

Les principaux gènes mutés ayant été mis en évidence chez l'homme sont détaillés dans le Tableau 6 et présentés sur la Figure 11.

Tableau 6 : Gènes touchés par des mutations à l'origine de myocardiopathie hypertrophique chez l'homme (Hyun et Filippich, 2006).

Les gènes les plus fréquemment impliqués sont représentés en gras.

Structure impliquée	Gène	Protéine codée
Fibre musculaire (myosine)	MYH7	Chaîne β lourde de la myosine
	<i>MYH6</i>	Chaîne α lourde de la myosine
	<i>MYL2</i>	Chaîne légère de la myosine MLC régulatrice
	<i>MYL3</i>	Chaîne légère de la myosine MLC essentielle
	<i>TTN</i>	Protéine du cytosquelette sarcomérique titine
Fibre musculaire (actine)	<i>TNNT2</i>	Troponine T cardiaque
	<i>TNNI3</i>	Troponine I cardiaque
	<i>TNNC1</i>	Troponine C cardiaque
	<i>TPM1</i>	α -tropomyosine
	<i>ACTC</i>	α -actine cardiaque
Filament intermédiaire	MYBPC3	Protéine C de liaison à la myosine
Protéines du disque Z	<i>ACTN2</i>	α -actinine 2
	<i>MYOZ2</i>	Myozénine 2
Protéines non sarcomériques	<i>PRKAG2</i>	Sous-unité régulatoire $\gamma 2$ de l'AMPK
	<i>MLP = CSRP3</i>	Protéine du muscle cardiaque LIM
Jonctions intron-exon	<i>Divers gènes</i>	Mutations causant des anomalies lors des phénomènes d'excision et d'épissage de l'ADN.
Protéines du métabolisme	<i>PRKA</i>	AMP Kinase (AMPK)

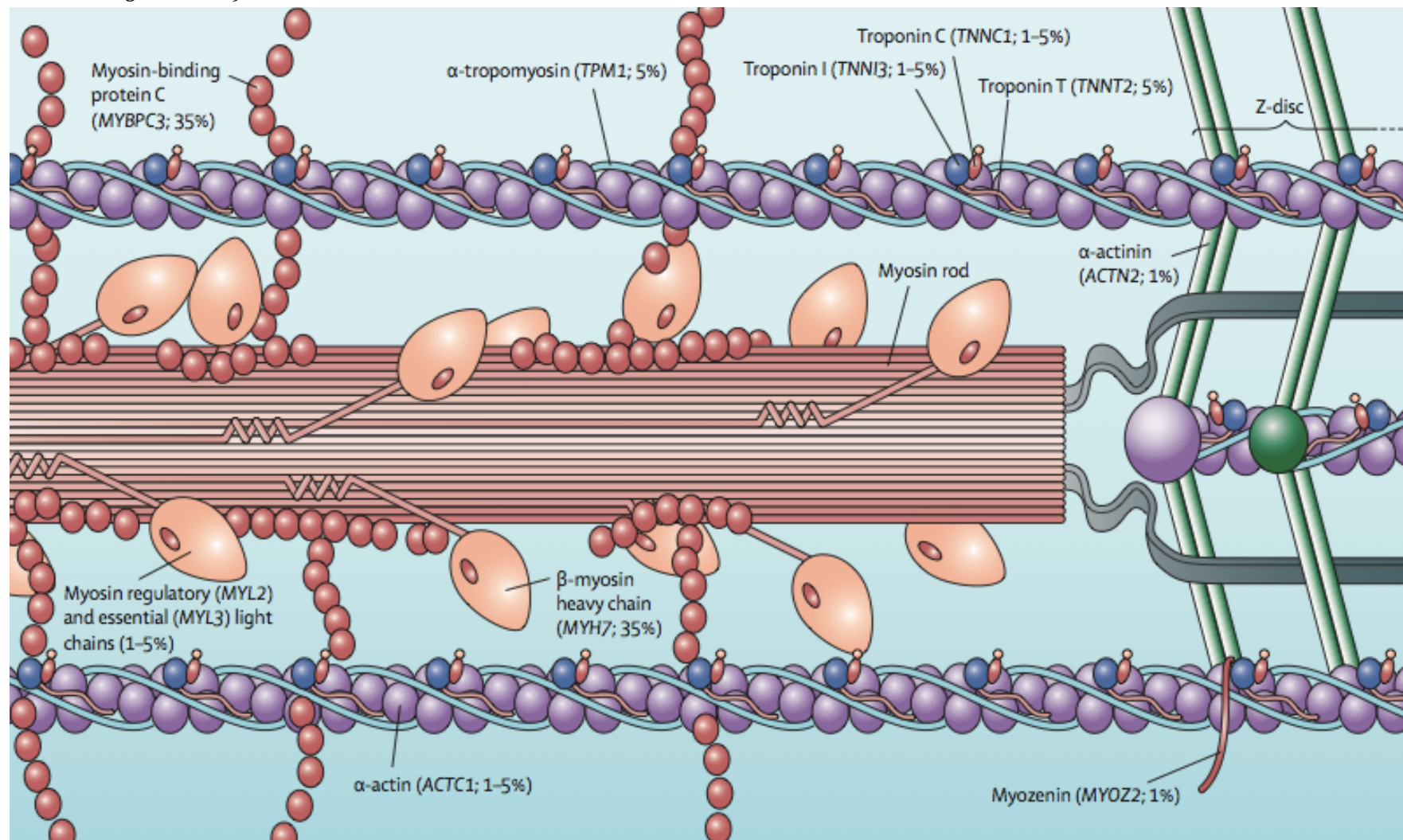
On notera que chez l'homme, l'aspect clinique de la cardiopathie dépend très fortement du gène muté : ainsi, une mutation du gène *MYH7* aura des conséquences cliniques plus graves que si le gène touché est le gène *MYBPC3*. Au sein d'un même gène, la gravité de la maladie sera également différente en fonction du codon touché par la mutation ou du mode d'action de la mutation : mutation perte de fonction, mutation gain de fonction ou autre (Hyun et Filippich, 2006).

Figure 11 : Schématisation de la localisation des principales protéines sarcomériques pour lesquelles la mutation du gène qui les code est à l'origine de la myocardiopathie hypertrophique chez l'homme (Maron et Maron, 2013).

Les pourcentages indiquent les fréquences pour lesquelles chacun de ces gènes sont impliqués dans la MCH chez l'homme lorsque l'origine génétique précise a été déterminée. Les gènes les plus souvent concernés par des mutations à l'origine de MCH sont le gène MYBPC3 (35 %) et le gène MYH7 (35 %).

Z-disc : disque Z ; Myosin rod : chaîne de myosine.

Gènes décrits : MYBPC3 : Protéine C3 de liaison à la myosine (« Myosin-binding protein C ») ; TPM1 : α -tropomyosine (« α -tropomyosin ») ; TNNT2 : Troponine T (« Troponin T ») ; ACTN2 : α -actinine (« α -actinin ») ; MYOZ2 : Myozénine (« Myozenin ») ; MYH7 : chaîne lourde β de la myosine (« β -myosin heavy chain ») ; ACTC1 : actine α (« α -actin ») ; MYL2 : chaîne légère régulatrice de la myosine (« myosin regulatory light chain ») ; MYL3 : chaîne légère essentielle de la myosine (« myosin essential light chain »).



3.2. Pathogenèse de la myocardiopathie dilatée chez l'homme

3.2.1. Physiopathologie de la myocardiopathie dilatée

La MCD chez l'homme se caractérise par un défaut de transmission des forces de contraction, et une altération des performances systoliques. Chez l'homme, la prévalence de la MCD est de 36,5/100 000, et environ 35 % des cas correspondent à des MCD d'origine génétique (Fatkin and Graham, 2002; Hyun et Filippich, 2006)

En raison du défaut de transmission des forces de contraction musculaire, les protéines du cytosquelette sont les protéines principalement impliquées dans la pathogénie de la MCD. Ces protéines ont en effet, par leur localisation cytoplasmique et membranaire, une fonction de « maillage intracellulaire » permettant de transmettre les forces de contraction du sarcomère vers la matrice extracellulaire. Leur dégradation entraîne une déstructuration de la cellule, ainsi qu'un défaut de transmission des informations entre les cellules.

Il existe deux types de mécanismes physiopathologiques à l'origine de MCD :

- La protéine présente une anomalie structurale détériorant son fonctionnement (protéine tronquée) ;
- La protéine présente une anomalie structurale l'empêchant d'interagir correctement avec d'autres protéines.

3.2.2. Origine génétique de la myocardiopathie dilatée chez l'homme

Les différentes études effectuées chez l'homme en utilisant la technique GWAS et l'approche « gène candidat » ont permis de mettre en évidence des origines génétiques relativement diverses pour la MCD (Burkett et Hershberger, 2005 ; Menon *et al.*, 2008). Plus de quarante gènes ont été mis en cause dans la MCD (Garcia-Pavia *et al.*, 2013).

De plus, dans le cas des mutations des gènes *MYH7* et *MYBPC3* causant des MCD, le mécanisme physiopathologique est celui d'un défaut de génération des forces de contractions, comme dans le cas des MCH. La MCD peut donc être soit une complication tardive d'une MCH, soit primaire (la mutation du gène *MYH7* a été mise en évidence chez des hommes atteints de MCD et sans aucun antécédent de MCH).

Les mutations des gènes codant pour des protéines du cytosquelette et du sarcomère sont les plus fréquentes, et concernent majoritairement le disque Z (Sequeira *et al.*, 2014). Ce sont des mutations qui dégradent l'intégrité du cytosquelette et la fonction systolique. Il existe également des mutations touchant les gènes codant les protéines de la lamina et du sarcolemme, les protéines impliquées dans la régulation des flux.

Le Tableau 7 regroupe les principaux gènes mutés mis en évidence chez l'homme (Menon *et al.*, 2008).

Tableau 7 : Gènes touchés par des mutations à l'origine de myocardiopathie dilatée chez l'homme (Hyun et Filippich, 2006).

Structure impliquée	Gène	Protéine codée
Fibre musculaire (filament lourd de myosine)	<i>MYH7</i>	Chaîne β du filament lourd de myosine
	<i>MYH6</i>	Chaîne α du filament lourd de myosine
	<i>MYBPC3</i>	Protéine C de liaison à la myosine
Fibre musculaire (filament léger d'actine)	<i>TNNT2</i>	Troponine T cardiaque
	<i>TNNC2</i>	Troponine C cardiaque
	<i>TPM1</i>	α -tropomyosine
	<i>ACTN2</i>	α -actinine-2
	<i>ACTC</i>	Actine cardiaque
	<i>TTN</i>	Titine
Protéines du cytosquelette	<i>DES</i>	Desmine
	<i>VCL</i>	Métavinculine
	<i>DMD</i>	Dystrophine
	<i>MLP = CSRP3</i>	Protéine du muscle LIM
Protéines de la lamina et du sarcolemme	<i>SGCD</i>	δ -sarcoglycane
	<i>SGCA</i>	α -sarcoglycane
	<i>SGCB</i>	β -sarcoglycane
	<i>LMNA</i>	Lamine A/C
Protéines impliquées dans la régulation des flux ioniques	<i>PLN</i>	Phospholambane
Autres protéines	<i>TAZ</i>	Tafazzine

Des mutations touchant l'ADN mitochondrial ont également été mises en évidence : ces mutations sont à l'origine chez l'homme d'une MCD infantile, par défaut de force de génération des contractions musculaires.

Par ailleurs, l'augmentation de l'activité du système nerveux sympathique (activé par le système rénine-angiotensine-aldostérone) est également à l'origine de MCD.

Le fait que certaines mutations de gènes sarcomériques et intrasarcomériques (actine, β -MHC, MYBPC, troponine T cardiaque, α -tropomyosine et titine) ainsi que des protéines nucléaires (lamine A et C) soient également à l'origine de MCD permet de déduire que ces protéines ne sont pas uniquement des composants du sarcomère (fondamentaux pour la génération des forces de contraction) mais également des protéines du cytosquelette intrasarcomérique impliquées dans la transmission des forces de contraction (Fatkin et Graham, 2002).

Différentes mutations d'un même gène peuvent être à l'origine de MCD ou de MCH. La localisation des mutations au sein des gènes est donc importante et entraîne des mécanismes physiopathologiques différents, et la cardiopathie clinique dépend de la localisation de la mutation sur un même gène.

Plusieurs types de mutations du gène codant l'actine (*ACTC*) ont été observés. Lorsque la mutation concerne la séquence d'ADN codant le domaine d'interaction entre actine et myosine, l'individu sera atteint de MCH (la génération de la force de contraction est altérée). Lorsque la mutation concerne la séquence d'ADN codant le domaine relié au sarcomère qui est impliqué dans la transmission des forces de contraction et non dans la génération des forces de contraction, l'individu sera atteint de MCD (Olson *et al.*, 2001).

Dans le cas des mutations de la troponine T à l'origine de MCH, une augmentation de la sensibilité au Ca^{2+} de l'ATPase myofibrillaire et de l'appareil contractile pourra être observée. Cependant, certaines mutations de la troponine T à l'origine de MCD se traduiront par une diminution de cette sensibilité des myofibrilles et de l'ATPase au Ca^{2+} , sans aucune modification de la cinétique de fixation du Ca^{2+} ni de la force maximale de contraction générée. La région mutée code dans ce deuxième cas un domaine de liaison à la troponine C, Ca^{2+} -dépendant (Fatkin et Graham, 2002).

Le statut homozygote/hétérozygote pour une même mutation conduit également à des variations de l'expression clinique de la cardiopathie. Il existe en effet une mutation du gène *MYH7* (codant le brin lourd α de la myosine) localisée sur la partie codant le domaine de liaison actine-myosine. Cependant, deux hommes porteurs de cette mutation ne présenteront pas forcément les mêmes symptômes fonctionnels en fonction du statut homozygote ou hétérozygote (Hyun et Filippich, 2006) :

- Un individu hétérozygote pour la mutation du gène *MYH7* sera atteint de MCH ;
- Un individu homozygote pour cette même mutation, sera atteint de MCD.

Dans le cas de la mutation du gène *MYH7*, le type de cardiopathie dépend du rapport entre les quantités de protéines « normales » et mutées disponibles (Stuurman *et al.*, 1998).

3.3. Pathogenèse de la myocardiopathie arythmogène droite chez l'homme

L'ARVC est une maladie du myocarde droit, caractérisée par une fibrose progressive du myocarde, à l'origine d'arythmies, sans modification macroscopique de la structure du myocarde.

Chez l'homme, un mode d'hérédité autosomique dominant à pénétrance incomplète a été mis en évidence dans la plupart des cas familiaux. Un mode d'hérédité autosomique récessif a également été mis en évidence dans de plus rares cas familiaux (Marcus *et al.*, 2010 ; Azaouagh *et al.*, 2011 ; Marcus *et al.*, 2013).

Actuellement, 30 à 50 % des hommes atteints d'ARVC possèdent une mutation connue (Marcus *et al.*, 2013). Différents gènes touchés par des mutations à l'origine d'ARVC ont été mis en évidence chez l'homme :

- Des mutations touchant les gènes codant les protéines formant les desmosomes : *JUP* (*junction plakoglobin*) codant pour la plakoglobine, *DSP* (*desmoplakin*) codant pour la desmoplakine, *PKP2* (*plakophilin 2*) codant pour la plakophiline-2, *DSG2* (*desmoglein 2*), codant pour la desmoglénine 2 et *DSC2* (*desmocollin 2*) codant pour la desmocolline 2. L'altération de ces protéines entraîne des anomalies d'adhérence intercellulaire, un défaut de transmission du signal électrique entre les myocytes, une dégénérescence cellulaire et une infiltration fibro-graisseuse (Marcus *et al.*, 2010 ; Hyun et Filippich, 2006 ; Azaouagh *et al.*, 2011) ;
- Des mutations touchant le gène *TGF β 3* codant pour le facteur de croissance de transformation de type β 3 ;
- Des mutations touchant le gène *TMEM43*, codant pour la protéine transmembranaire 43 (également dénommée « LUMA »), dont la fonction est encore peu connue (Merner *et al.*, 2008) ;
- Des mutations touchant le gène codant le récepteur à la ryanodine (*RyR2*) ont également été mises en évidence (Hyun et Filippich, 2006 ; Marcus *et al.*, 2010).

3.4. Pathogenèse de la myocardiopathie restrictive chez l'Homme

La MCR est une cardiopathie rare chez l'homme, caractérisée par une dysfonction diastolique majeure et une diminution importante de l'inotropisme ventriculaire, en raison du remodelage et de la fibrose des ventricules.

Cette maladie a été moins étudiée chez l'homme que les MCD et MCH. Cependant, l'étiologie génétique des MCR primaires a été prouvée.

Chez l'homme, une étude a permis de montrer que certains cas de MCR étaient associés à des dépôts de desmine dans les cellules musculaires cardiaques et squelettiques. Plusieurs mutations (autosomique dominantes et autosomique récessives) du gène *DES* codant la desmine ont été mise en évidence (Fox, 2004; Hyun et Filippich, 2006).

D'autres études ont mis en évidence des mutations du gène *ACTC* codant l'actine cardiaque (Kaski *et al.*, 2008) ainsi que d'autres mutations du gène *TNNI3* codant la troponine I (Mogensen *et al.*, 2003) à l'origine de cas familiaux de MCR.

Troisième partie :

État actuel des recherches concernant le

déterminisme génétique des

myocardiopathies chez les carnivores

domestiques

Les carnivores domestiques sont touchés majoritairement par quatre formes de myocardiopathies :

- La MCH et la MCR, plus fréquemment présentes chez les chats,
- La MCD et l'ARVC, atteignant préférentiellement les chiens.

Il a été montré pour la MCH, la MCD et l'ARVC, que certaines races présentaient une prévalence de ces myocardiopathies très importante, et que des animaux de certaines lignées semblent prédisposés à ces maladies. Ces données sont en faveur d'une origine génétique des myocardiopathies primaires chez les carnivores domestiques, tout comme chez l'homme.

Pour chacune des races touchées par une de ces myocardiopathies dont l'origine génétique a été mise en évidence, les caractéristiques de la maladie et les connaissances actuelles sur l'étiologie moléculaire seront détaillées.

Les entités abordées dans ce manuscrit sont l'ARVC (touchant le Boxer), la MCD (touchant les chiens de grande taille), et la MCH (touchant les chats de race). La MCR ne sera pas évoquée dans la suite de ce manuscrit, car, si cette maladie peut être d'origine génétique chez l'homme, aucune origine familiale n'a été démontrée pour la MCR chez le chat (MacDonald, 2010).

1. La myocardiopathie arythmogène droite

1.1. Présentation générale chez le Boxer

Quelques mots sur le Boxer

Le Boxer (Figure 12) est une race relativement récente, d'origine allemande, issue du croisement entre des chiens de chasse allemands possédant une mâchoire très large et puissante (nommés Bullenbeisser), et des bouledogues anglais, à la fin du XIX^e siècle.

Le Boxer est un chien de grande taille, au poil ras, et à l'ossature puissante. Il possède un crâne étroit et cubique, ainsi qu'un museau très large et puissant, avec un stop marqué entre le front et le chanfrein. Sa robe est uniquement fauve ou bringée. Le Boxer présente de très bonnes aptitudes à la défense (Standards FCI, FCI 2008).

Figure 12 : Chien de race Boxer (fiche race, Royal Canin).



Le Boxer est une race préférentiellement touchée par l'ARVC, myocardiopathie touchant principalement le ventricule droit, et se caractérisant majoritairement par des arythmies.

Prévalence et épidémiologie

Une étude prospective a été réalisée sur un total de 551 chiens américains de race Boxer de plus d'un an, suivis pendant au minimum deux ans, afin de déterminer les caractéristiques épidémiologiques de l'ARVC chez le Boxer. Le diagnostic s'est basé sur des critères cliniques, échocardiographiques et électrocardiographiques (examen Holter sur 24h). (Meurs *et al.*, 2014).

Sur un total de 551 chiens de race Boxer, 49 chiens étaient atteints d'ARVC et 23 chiens considérés comme exempts d'ARVC. Pour les autres chiens, l'examen Holter ne permettait pas de conclure sur le statut sain/atteint d'ARVC. Ces résultats donnent une évaluation de la prévalence de la maladie, mais sont à interpréter avec précaution, car la population étudiée

correspond à une population de chiens médicalisés et non à la population totale de chiens de race Boxer. De plus, l'ARVC est souvent difficile à diagnostiquer précocement, en raison de la variabilité inter-jour des arythmies chez un même chien, et de l'absence fréquente d'anomalies échocardiographiques.

Dans cette étude, la maladie se développait à un âge médian de 6 ans, et les Boxers avaient une médiane de survie variant entre 1500 et 1700 jours après le diagnostic (Meurs *et al.*, 2014).

Présentation clinique

L'ARVC est une maladie d'apparition assez tardive, en général à l'âge adulte.

Il s'agit d'une dégénérescence du myocarde caractérisée par une infiltration graisseuse et une atrophie des myocytes, localisées dans le ventricule droit.

Elle se rapproche cliniquement et par sa physiopathologie de l'ARVC humaine (Basso *et al.*, 2004).

En réalité, trois formes de myocardiopathies sont décrites chez le chien de race Boxer (Harpster, 1983), se traduisant par :

- Des animaux qui restent asymptomatiques mais présentent des épisodes fréquents d'arythmie ventriculaire (principalement des extrasystoles ventriculaires (ESV)) ;
- Des animaux qui présentent une intolérance marquée à l'effort, voire des syncopes, et des tachyarythmies : ces deux premières formes sont appelées ARVC ;
- Des animaux qui développent une dysfonction systolique, voire une IC congestive (en majorité droite) et des arythmies. Cette forme de la maladie est proche de la MCD idiopathique touchant d'autres races de grands chiens. Elle est d'ailleurs appelée MCD chez le Boxer (*cf. Partie 2 : 2.1*).

Le risque de mort subite est élevé chez les animaux atteints d'ARVC.

Le motif principal de consultation pour l'exploration d'ARVC sera la présence d'un ou plusieurs épisodes de syncopes. Ces épisodes sont parfois accompagnés d'intolérance à l'effort ou de léthargie (Meurs, 2010b).

Diagnostic

Le diagnostic d'ARVC est complexe, et s'appuie sur la conjonction d'un examen clinique, électrocardiographique (et Holter), et échocardiographique (Meurs, 2004).

De plus, les critères diagnostiques sont différents en fonction des lignées de Boxers (lignées nord-américaines *versus* européennes). Si les Boxers nord-américains présentent plutôt une forme de myocardiopathie avec un nombre significatif d'arythmies ventriculaires mais peu de signes échographiques de dilatation ou d'hypokinésie ventriculaire, les lignées européennes de Boxer sont plus fréquemment atteintes d'IC congestive. La forme de myocardiopathie majoritaire dans les lignées européennes de Boxers se rapproche ainsi de la MCD (*cf. Partie 2 : 2.1*) (Dukes-McEwan *et al.*, 2003).

- Examen clinique :

L'examen clinique est en général normal. L'auscultation cardiaque révèle la présence d'ESV voire de tachyarythmie (Meurs, 2004).

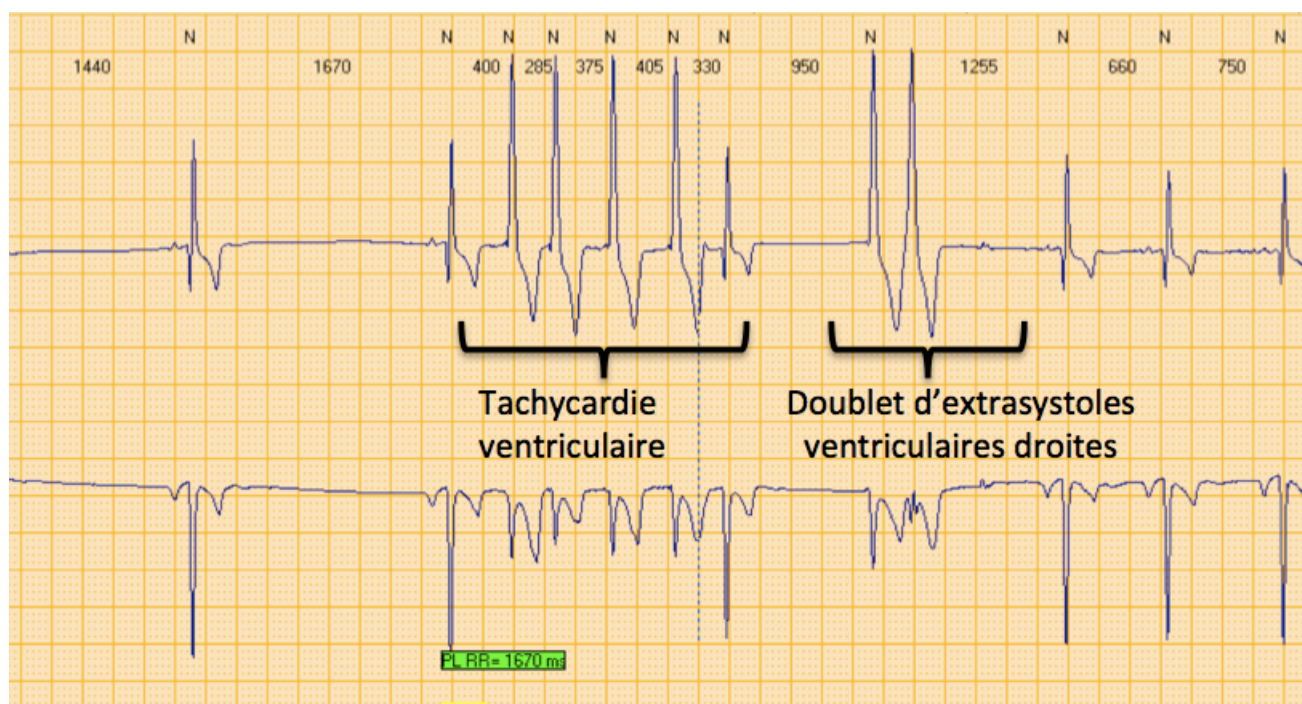
- Électrocardiogramme et examen de type Holter

L'examen ECG permet de mettre en évidence des ESV droites dont la morphologie est typique de celle d'une ESV avec bloc de branche gauche (Basso *et al.*, 2004). Un ou plusieurs épisodes de tachycardie ventriculaire peuvent également être mis en évidence. Néanmoins, un ECG sans anomalie ne permet pas d'exclure l'ARVC, en raison de la variabilité individuelle intra-raciale des arythmies. Lors de suspicion d'ARVC ou lorsque l'animal appartient à une lignée atteinte d'ARVC, il faut procéder à un examen de type Holter (ECG sur une durée de 24h) (Figure 13).

Cet examen permet d'évaluer la présence d'arythmies, leur fréquence et leur nature sur une journée entière, dans le contexte de vie habituelle de l'animal. Au-delà de 300 ESV droites isolées sur une durée de 24h, la suspicion d'ARVC est forte. Le diagnostic est équivoque lorsque le nombre d'ESV isolées est compris entre 100 et 300 sur 24h. La présence de formes complexes d'arythmies (tachycardie ventriculaire, doublets ou triplets d'ESV, tachycardie ventriculaire, phénomène R sur T) permet d'établir avec certitude le diagnostic d'ARVC (Meurs *et al.*, 2014).

En cas de forte suspicion d'ARVC, si l'examen Holter est négatif, il peut s'avérer utile de réitérer cet examen une seconde fois, en raison de la forte variabilité inter-jour de la fréquence des ESV (Meurs, 2004).

Figure 13 : Mise en évidence d'épisodes d'extrasystoles ventriculaires droites (un doublet et une tachycardie ventriculaire) à l'examen Holter chez un chien Boxer mâle de 5 ans présentant des épisodes de syncopes et d'insuffisance à l'effort (Unité de Cardiologie d'Alfort).



Chez les Boxers présentant une dilatation ventriculaire et une dysfonction systolique, des extrasystoles supra-ventriculaires peuvent être mises en évidence à l'ECG (Meurs, 2010b).

Le risque de syncope sera plus important chez un animal présentant un nombre élevé d'ESV droites. La présence de tachycardie ventriculaire est également un facteur de risque de mort subite (Meurs, 2004).

- Échocardiographie

L'examen échocardiographique est normal pour la plupart des Boxers atteints d'ARVC. Une très légère dilatation du ventricule droit peut néanmoins être mise en évidence.

Une dilatation ventriculaire gauche associée à une dysfonction systolique peut être observée chez une faible proportion des chiens atteints de tachyarythmie (Meurs *et al.*, 2003 ; Meurs, 2010b).

Lorsqu'aucune anomalie n'est détectée à l'examen échocardiographique et clinique, le diagnostic se base alors sur les antécédents familiaux de la maladie, la présence d'antécédents de syncopes, et la présence de tachyarythmies ventriculaires droites. Le diagnostic de certitude de l'ARVC est très complexe, d'où l'importance de dépistages cliniques, électrocardiographiques et échocardiographiques réguliers (Meurs, 2010b).

- Évaluation des biomarqueurs cardiaques

Les biomarqueurs cardiaques sont des substances biologiques élaborées par les cardiomyocytes, utilisés comme indicateurs d'un processus pathologique (remodelage, stress pariétal, inflammation, lyse, *etc.*). Les biomarqueurs les plus étudiés dans le cadre des maladies cardiaques canines sont la troponine I cardiaque (cTnI) et la partie N-terminale du peptide natriurétique de type B (NT-proBNP).

La cTnI est un marqueur spécifique et précoce de lyse myocardique, sécrété par les cardiomyocytes. Le NT-proBNP correspond à la portion inactive de la pro-hormone proBNP, sécrétée par les cardiomyocytes en réponse à un stress myocytaire, comme la surcharge volumique, l'hypertrophie, l'hypoxie, et les mécanismes accompagnant le développement de l'IC (Misbach et Chetboul, 2014).

Un suivi des cTnI sériques chez les Boxers est intéressant pour mettre en évidence la souffrance musculaire. Une étude portant sur 10 Boxers atteints d'ARVC, 10 Boxers sains et 10 chiens non-Boxer sains, a montré, au sein de la population étudiée, que la concentration sérique en cTnI était significativement plus élevée chez les Boxers atteints d'ARVC. De plus, parmi les chiens sains (de race Boxer ou non), la concentration sérique en cTnI était corrélée au nombre d'ESV sur 24 heures. Ce paramètre seul ne suffit néanmoins pas pour diagnostiquer de façon certaine l'ARVC car il est peu spécifique (Baumwart *et al.*, 2007 ; Meurs, 2010b).

De plus, aucune modification significative de la concentration sérique en BNP n'a été mise en évidence lors d'ARVC chez le Boxer (Baumwart *et al.*, 2007).

- Examen post-mortem et histologie

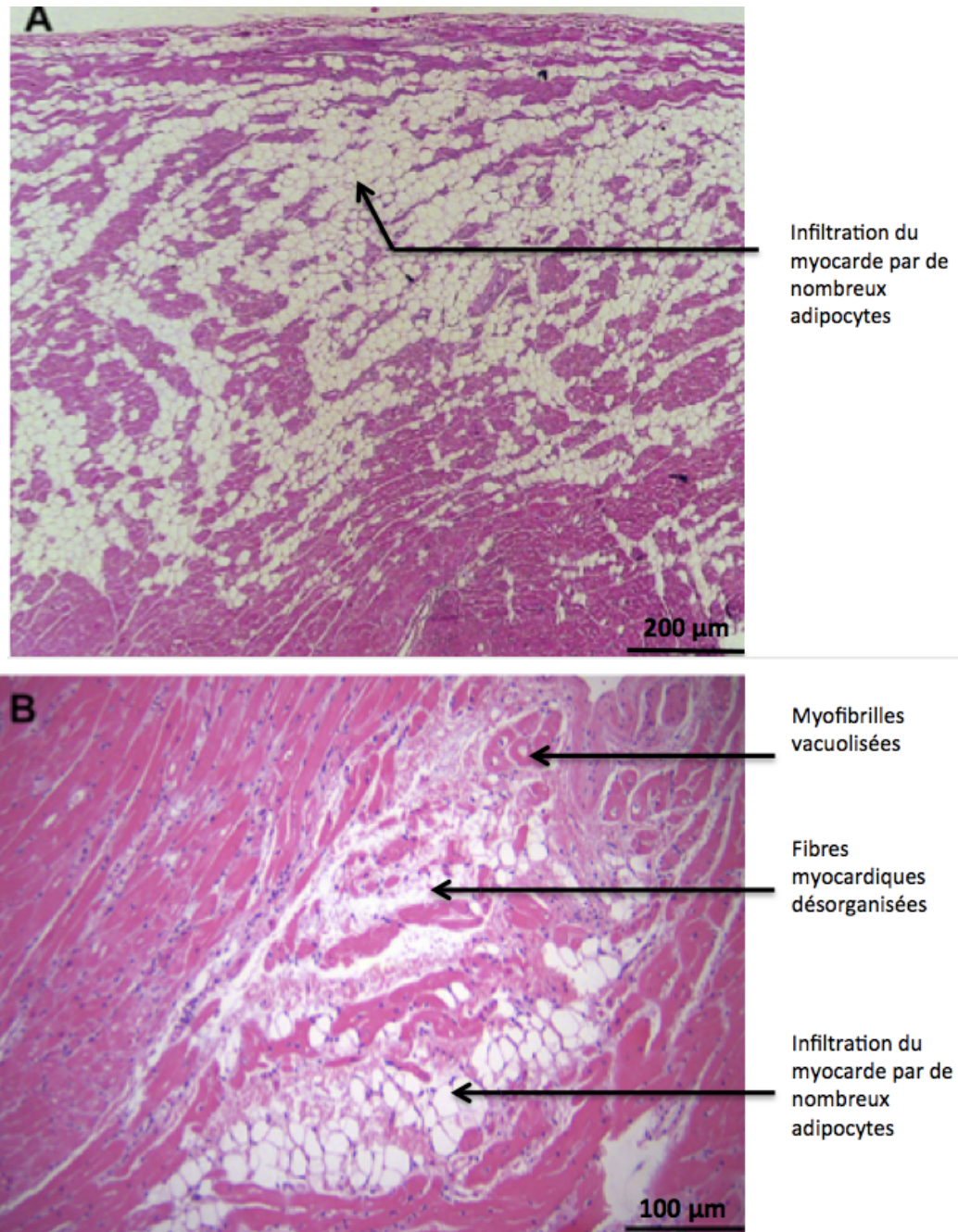
L'aspect macroscopique du cœur est normal dans la majorité des cas d'ARVC (épaisseur des parois ventriculaires et masse du cœur). Une dilatation ventriculaire droite ou gauche modérée, associée à un amincissement des parois ventriculaires est observée dans de rares cas (Basso *et al.*, 2004).

L'examen histologique met en évidence une atrophie des myocytes et une infiltration graisseuse voire fibro-graisseuse du myocarde, localisées dans la paroi libre du ventricule droit

et parfois dans le septum interventriculaire et la paroi libre du ventricule gauche (Figure 14) (Ettinger et Feldman, 2010).

Figure 14 : Coupes histologiques de la paroi ventriculaire droite (A) et du septum interventriculaire (B) d'un Boxer atteint de myocardiopathie arythmogène droite, après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (Oyama, 2008).

La coloration permet de mettre en évidence les myocytes (en roses) désorganisés. Certains myocytes sont vacuolisés. L'infiltration du myocarde par des adipocytes (en blanc) est visible dans les deux échantillons.



La **forme grasseuse d'ARVC** est caractérisée par une distribution multifocale de l'infiltration grasseuse, au sein de la paroi du ventricule droit et des trabécules, s'étendant de l'épicarde à l'endocarde, et souvent associée à une fibrose interstitielle modérée.

La **forme fibro-graisseuse d'ARVC** se caractérise par des régions focales ou diffuses composées de cellules adipeuses, associée à des zones de fibrose.

Ces deux formes se caractérisent par un nombre limité de myocytes « sains », entourés par des régions adipeuses, ou des régions composées de tissus graisseux et fibreux (Basso *et al.*, 2004).

1.2. Déterminisme génétique

Différentes études génétiques ont porté sur l'ARVC, en Europe et aux États-Unis. Les résultats obtenus témoignent de différences concernant le déterminisme génétique de l'ARVC entre les lignées américaines et les lignées européennes de Boxers.

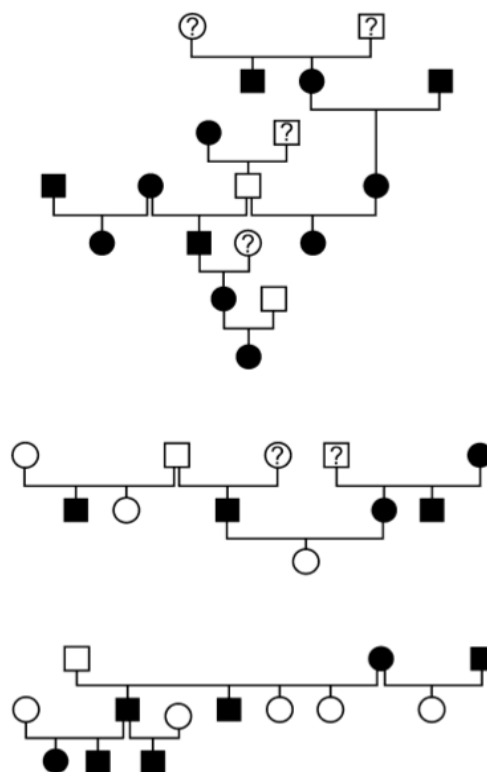
Données génétiques concernant la myocardiopathie arythmogène droite aux États-Unis

L'atteinte préférentielle de certaines lignées américaines de Boxers par l'ARVC a été très tôt mise en évidence. Le mode de transmission de l'ARVC dans cette race est de type autosomique dominant, avec une pénétrance incomplète de la maladie (Meurs *et al.*, 1999). Aucune prédominance de la maladie liée au sexe n'a en effet été observée dans les pedigrees étudiés par le Dr Meurs (Figure 15). Des chiens malades étaient présents au sein de chaque génération des pedigrees, et deux chiens malades ont pu produire une descendance saine (Meurs *et al.*, 1999 ; Meurs *et al.*, 2006).

Figure 15 : Pedigrees de trois lignées américaines de chiens de race Boxer dans lesquelles ségrège la myocardiopathie arythmogène droite (Meurs *et al.*, 2006)

Les cercles et les carrés représentent respectivement les femelles et les mâles. Les symboles noirs représentent les animaux atteints de myocardiopathie arythmogène droite et les symboles blancs les individus non atteints. Les animaux pour lesquels aucun diagnostic n'a été établi sont représentés par un symbole contenant un point d'interrogation.

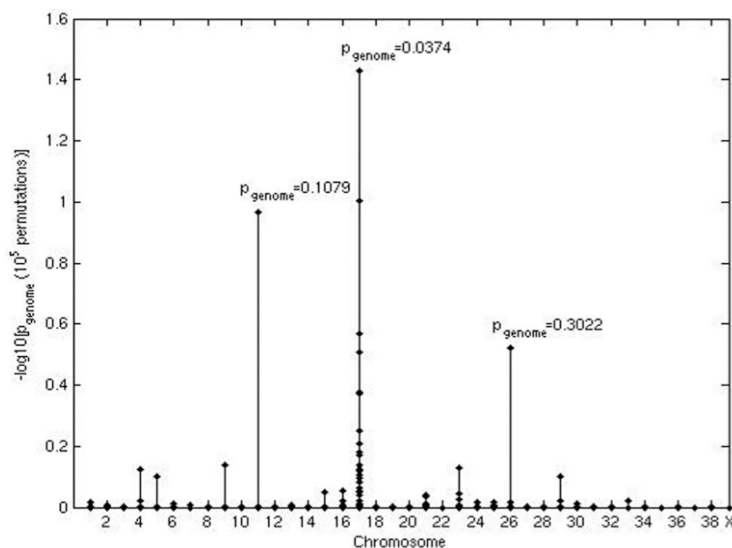
Un mode de transmission autosomique dominant à pénétrance incomplète est mis en évidence.



Une mutation significativement associée à l'ARVC a été identifiée à l'échelle moléculaire, en 2010, dans des lignées américaines de Boxers. Une étude de type GWAS a permis d'identifier une région de 10 Mb (mégabase) sur le chromosome canin 17 (Figure 16). Cette étude a été effectuée sur une cohorte de 46 Boxers atteints d'ARVC, et une cohorte de 43 chiens sains appartenant à 11 races différentes.

Figure 16 : Résultats de l'étude de type Genome Wide Association Study réalisée chez le Boxer pour l'analyse de la myocardiopathie arythmogène droite (Meurs *et al.*, 2010).

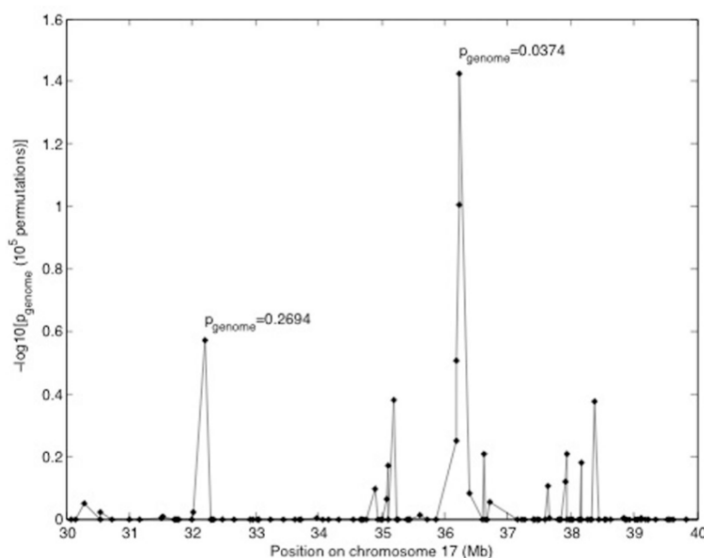
Le chromosome 17 est la région la plus associée à la myocardiopathie arythmogène droite dans cette race, avec une valeur du p inférieure à 0,04.



Une analyse plus poussée de la région candidate identifiée par cartographie fine a été réalisée sur 61 Boxers atteints par la maladie et 38 Boxers indemnes. L'ajout de 33 marqueurs SNP situés sur la région candidate a permis de restreindre la zone candidate à une région située à 36 Mb sur le chromosome 17 (Figure 17).

Figure 17 : Cartographie fine de la région mise en évidence sur le chromosome 17 représentant l'association de chacune des régions de ce chromosome avec la myocardiopathie arythmogène droite (Meurs *et al.*, 2010).

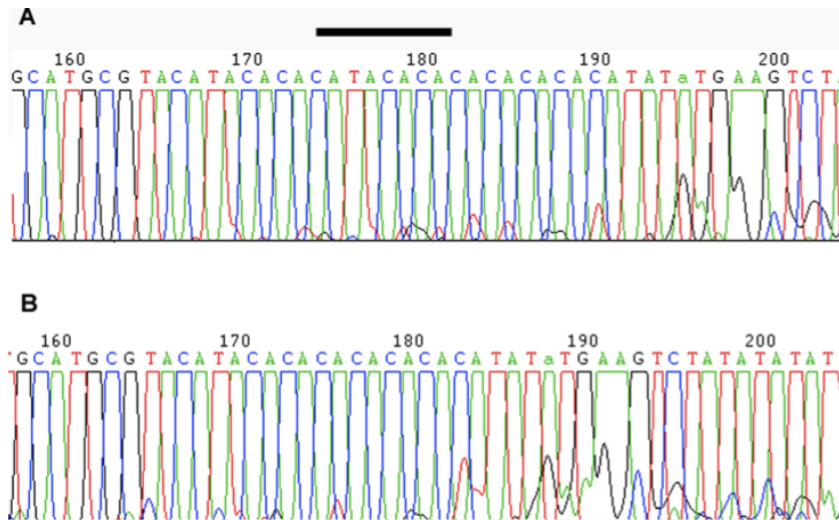
La région associée correspond à une région de 10 Mb en position 36 Mb sur le chromosome 17.



Deux gènes candidats potentiels situés dans la région d'association ont été sélectionnés suite à l'analyse des bases de données génétiques du génome du chien : le gène *STRN* (striatine) et le gène *VIT* (vitrin). Les exons et des régions non-codantes de ces gènes ont été séquencés chez des chiens atteints et des chiens indemnes d'ARVC. Une délétion de 8 pb, associée de manière significative à la maladie, a été mise en évidence sur une partie non codante (3'UTR = 3' *untranslated region*) du gène *STRN*, codant la striatine (Figure 18).

Figure 18 : Mise en évidence d'une délétion de 8 paires de bases touchant la zone 3' non traduite du gène canin codant la striatine (Meurs *et al.*, 2010).

A : chien contrôle ; B : chien homozygote atteint de myocardopathie arythmogène droite ; barre noire : localisation de la délétion.

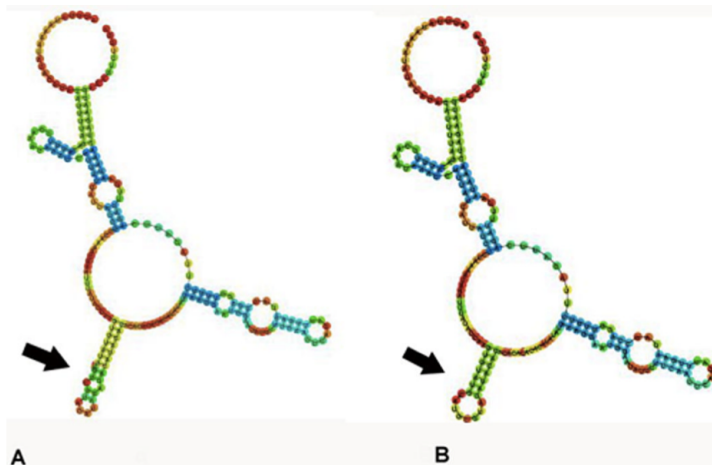


Cette délétion entraîne une modification de la structure secondaire de la région régulatrice de la striatine (Figure 19). Cette modification de structure altère la fixation des protéines régulatrices, ainsi que la stabilité de l'ARN messager (ARNm) produit. De plus, la localisation de la délétion concerne une région riche en éléments régulateurs de la transcription et stabilisateurs de l'ARNm.

Figure 19 : Modification de la structure secondaire de la protéine striatine au niveau de la zone correspondant à la région du gène *STRN* touchée par la mutation (Meurs *et al.*, 2010).

*A : chien homozygote récessif sain ; B : chien possédant l'allèle muté pour le gène *STRN*, atteint de myocardopathie arythmogène droite ; *STRN* : gène codant la striatine.*

La flèche désigne la zone modifiée par la mutation : la structure boucle-tige-boucle de la protéine A est altérée lorsqu'elle est touchée par la mutation (B).



Une diminution de la quantité d'ARNm produit à partir du gène *STRN* a été mise en évidence par des études d'expression des ARNm (Figure 20 et 21).

Figure 20 : Étude d'expression de l'acide ribonucléique messager (ARNm) codant la protéine striatine chez deux chiens non-Boxer, et chez quatre Boxers atteints de myocardiopathie arythmogène droite (Meurs *et al.*, 2010).

Control Dogs : chiens non-Boxer ; *ARVC dogs* : chiens atteints de myocardiopathie arythmogène droite ; *Delta CT* : Différence entre le cycle seuil de l'échantillon et celui d'un gène de référence. Le delta CT correspond au nombre de cycles de PCR (réaction par polymérisation en chaîne) nécessaires pour détecter l'immunofluorescence témoignant de la présence d'ARNm codant pour la striatine chez les animaux testés par rapport au nombre de cycles nécessaires pour un gène de référence.

La production d'ARNm est significativement diminuée chez les Boxers malades.

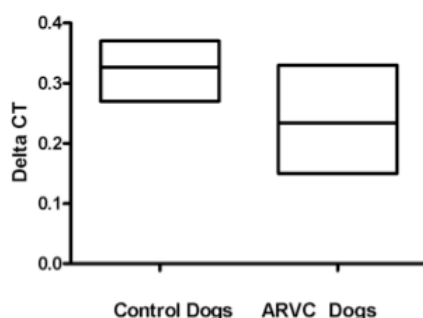
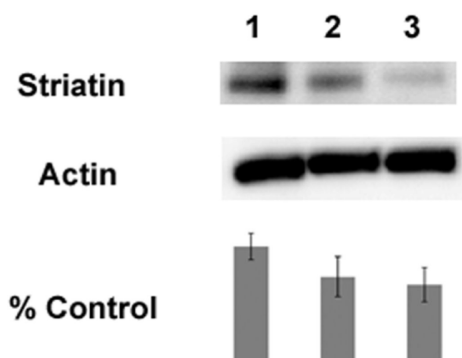


Figure 21 : Résultats du Western blot visant à analyser la quantité de striatine dans des sections myocardiques du ventricule droit chez deux chiens non-Boxer sains (1), deux chiens de race Boxer hétérozygotes pour la mutation du gène *STRN* (2), et deux chiens de race Boxer homozygotes pour la mutation du gène *STRN* (3), et calcul de la quantité de protéine par rapport aux chiens contrôle (chiens homozygotes sains non-Boxer) (Meurs *et al.*, 2010).

STRN : gène codant pour la striatine ; *Striatin* : striatine ; *Actine* : actine ; % Control : proportion de chacune des molécules par rapport aux chiens contrôles ;

La striatine est exprimée en plus faible quantité chez les chiens homozygotes pour la mutation que chez les chiens hétérozygotes et sains. Elle est également exprimée en plus faible quantité chez les chiens hétérozygotes par rapport aux chiens contrôles. Il n'existe aucune différence d'expression de l'actine entre les trois groupes d'individus.



La protéine striatine est une protéine située dans le disque intercalé, qui entre en interaction avec les protéines du desmosome. Elle possède un site de liaison à la calmoduline, Ca^{2+} -dépendant et un site de liaison à la cavéoline (Meurs *et al.*, 2010).

Par ailleurs, une étude de l'expression de la protéine RyR2 réalisée en 2006, a mis en évidence une diminution significative de l'expression de cette protéine au sein du myocarde chez les Boxers atteints d'ARVC, mais aucune mutation du gène codant pour la protéine RyR2 n'a pu être mise en évidence (Meurs *et al.*, 2006). Il serait donc intéressant d'étudier la physiopathologie de l'ARVC chez le Boxer, afin de déterminer s'il existe une relation entre la mutation du gène *STRN* et la diminution d'expression de la protéine RyR2. Il est probable que la diminution d'expression de RyR2 soit causée par un défaut d'expression d'une des protéines assurant la stabilité de la protéine RyR2 (FKBP1B, calmoduline...), le défaut d'expression du gène *RyR2* étant en effet plus probablement la conséquence d'une autre mutation primaire (Meurs *et al.*, 2006) ou de la mutation dans la striatine découverte quelques années plus tard (en 2010).

Dans le but d'étudier la relation physiopathologique entre la mutation de la striatine et la désorganisation du sarcomère ainsi que l'infiltration fibro-adipeuse du myocarde, une étude réalisée en 2014 (Oxford, 2014) a mis en évidence une anomalie de localisation de la protéine β -caténine chez les chiens atteints d'ARVC. La protéine est alors localisée en quantité importante au niveau du réticulum endoplasmique. L'équipe d'Eva M. Oxford suppose actuellement que la mauvaise localisation de la β -caténine entraîne un défaut de dégradation de cette protéine, et cet excès de β -caténine au niveau du réticulum endoplasmique a une action inhibitrice sur la migration des protéines de type Wnt, ayant un rôle dans l'embryogenèse et l'homéostasie des tissus adultes. Il a été montré chez des modèles transgéniques de souris d'expérimentation, qu'une diminution de la quantité en protéines de type Wnt était associée à une augmentation de la fibrogenèse et de la production d'adipocytes. Cependant, aucune association significative avec la mutation du gène codant pour la striatine n'a été mise en évidence.

Le séquençage du gène codant pour la striatine, effectué chez 59 autres Boxers atteints d'ARVC, 40 Boxers non atteints et 100 chiens appartenant à d'autres races, a révélé l'absence de cette mutation chez les chiens américains indemnes analysés. Les chiens porteurs homozygotes de la mutation étaient atteints par une forme plus grave de la maladie, avec un nombre plus élevé d'ESV sur 24 heures que les chiens hétérozygotes (Meurs *et al.*, 2009a; Meurs *et al.*, 2010).

De plus, une étude réalisée en 2014 par l'équipe du Dr Meurs a permis de confirmer l'association significative entre l'ARVC et la délétion touchant le gène codant pour la striatine. Cette étude a mis en évidence cette mutation chez 36 Boxers atteints d'ARVC sur 43. 26 de ces chiens étaient hétérozygotes pour la mutation et sept de ces chiens étaient homozygotes. Par ailleurs, cinq des 23 chiens sains faisant partie de l'étude étaient hétérozygotes pour cette même mutation. Ces résultats sont en faveur d'une pénétrance incomplète de la mutation du gène de la striatine. De plus l'expression de cette mutation est probablement modulée par des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux (Meurs *et al.*, 2014). La pénétrance de la mutation a été évaluée à 80 % chez les chiens de race Boxer (Meurs *et al.*, 2010) alors qu'elle est évaluée à 30 % chez l'homme pour certaines mutations (Meurs *et al.*, 2014).

L'étude de 2014 a également montré que l'ARVC était une maladie de l'adulte, se déclarant généralement vers l'âge de six ans. Dans cette étude, l'espérance de vie des chiens atteints d'ARVC n'était pas réduite par rapport à celle des chiens indemnes. Enfin, sept chiens atteints d'ARVC étaient homozygotes sauvages pour la délétion de la striatine, ceci suggérant la présence d'au moins une autre mutation à l'origine d'ARVC chez le Boxer (Meurs *et al.*, 2014).

Les lignées européennes de Boxers étant plus fréquemment touchées par la MCD que l'ARVC, les études portent en général sur la MCD, et regroupent en général ARVC et MCD sous une même dénomination ("MCD"). Cette forme de myocardiopathie sera développée ci-après.

2. La myocardiopathie dilatée

2.1. Présentation générale de la myocardiopathie dilatée

Définition

La MCD est une maladie du myocarde, caractérisée par une dilatation ventriculaire et une diminution marquée de l'inotropisme ventriculaire, touchant un ventricule ou les deux. Cette dilatation peut atteindre l'ensemble des cavités cardiaques et être associée à un amincissement des parois ventriculaires dans les stades avancés de la maladie. Chez les chiens de grande race, le ventricule gauche est le plus fréquemment atteint. La dysfonction ventriculaire est systolique, mais une dysfonction diastolique peut être observée dans certains cas (Meurs, 2010c).

Diagnostic différentiel

L'étiologie d'une dilatation ventriculaire est multiple : la dilatation des cavités cardiaques et la dysfonction myocardique ne sont pas spécifiques de la MCD, et il est important d'exclure d'abord les causes primaires de ces lésions cardiaques (Tableau 8 : autres causes de dilatation cardiaque) avant de pouvoir conclure à une myocardiopathie dilatée primitive ou idiopathique.

Tableau 8 : Causes de myocardiopathie dilatée (D'après Dukes-McEwan *et al.*, 2003).

Maladies cardiaques acquises ou congénitales
Tachyarythmies induisant une myocardiopathie secondaire
Hypertension systémique
Maladies du péricarde
Affections systémiques (hypothyroïdie, ...)
Maladie iatrogène (traitement à la doxorubicine, ...)
Déficit métabolique (en taurine, L-carnitine)
Fibrillation atriale
Myocardites

Prévalence et épidémiologie

Une étude réalisée à l'université de Purdue dans les années 1980, a montré que la prévalence de la MCD était plus importante chez les chiens de race (0,65 %) que chez les chiens « croisés » (0,16 %). De plus, la prévalence de cette maladie dans certaines races (Doberman, Lévrier Irlandais, Dogue Allemand, Boxer, Terre Neuve) était largement supérieure à celle observée dans d'autres races (Dukes-McEwan *et al.*, 2003). Ainsi, la MCD est une maladie touchant préférentiellement les grands chiens.

La MCD se déclare en général à l'âge adulte. Il existe néanmoins des formes juvéniles de la maladie, comme chez le Doberman, ou chez le chien d'Eau Portugais pour lequel la maladie est en général diagnostiquée entre 2 et 32 semaines d'âge (Vollmar *et al.*, 2003 ; Meurs, 2010c).

Présentation clinique

La MCD est très fréquemment à l'origine d'une IC voire de mort subite chez le chien.

L'évolution de la maladie a été gradée en trois stades (Mausberg *et al.*, 2011) :

- Le stade 1 : l'animal ne présente aucun signe clinique ni anomalie du rythme. Il est cependant porteur de la mutation responsable de la maladie et des remaniements du muscle cardiaque ont lieu à l'échelle cellulaire. Ce stade peut durer de quelques mois à plusieurs années ;
- Le stade 2 : l'animal présente des anomalies rythmiques (à l'ECG) et morphologiques (à l'échocardiographie), mais reste asymptomatique. Ce stade est qualifié d'occulte : il dure en moyenne trois à quatre ans, et 30 % des chiens au stade 2 meurent subitement, en raison d'arythmies ;
- Le stade 3 : il s'agit du stade "déclaré" de MCD. La cardiopathie s'accompagne de symptômes détectables par le propriétaire, incluant des symptômes d'IC (gauche, droite ou globale) et/ou circulatoire (détaillés dans le Tableau 9), et des symptômes généraux (perte de poids, dysorexie, polydipsie, abattement).
Ce stade peut durer de quelques jours à quelques années, en fonction de la thérapeutique mise en place et de la gravité de l'IC.

Néanmoins, la mort subite peut survenir à n'importe quel stade de la maladie.

Tableau 9 : Signes fonctionnels et signes physiques dans les différents types d'insuffisance cardiaque (Chetboul, 2014).

IC : insuffisance cardiaque ; TRC : temps de recoloration capillaire.

<u>Type d'IC</u>	<u>Signes fonctionnels</u>	<u>Signes physiques</u>
<u>Congestive Gauche</u>	- Dyspnée - Tachypnée - Toux - Intolérance à l'effort	Discordance, orthopnée, cyanose, jetage spumeux bilatéral, râles, craquements pulmonaires et augmentation des bruits respiratoires à l'auscultation (dus à l'œdème pulmonaire)
<u>Congestive Droite</u>	- Distension abdominale - Intolérance à l'effort, dyspnée, tachypnée (épanchement pleural)	- Signe du flot (ascite) - Hépatomégalie - Turgescence des jugulaires - Réflexe hépato-jugulaire
<u>Circulatoire</u>	- Abattement - Intolérance à l'effort - Faiblesse - Syncopes - Lipothymies	- Muqueuses pâles - TRC augmenté - Pouls artériel d'intensité diminuée - Hypothermie, extrémités froides - Altération de la conscience - État de choc

Diagnostic

- Examen clinique

La MCD se caractérise par une phase asymptomatique de longue durée, lors de laquelle l'examen clinique ne permet pas de révéler l'atteinte cardiaque.

Lors du stade « déclaré » de MCD (signes fonctionnels d'IC), l'examen clinique mettra en général en évidence des signes cliniques d'IC circulatoire et d'IC congestive gauche ou globale.

L'auscultation respiratoire peut révéler des bruits adventices (crépitements fins en fin d'inspiration lors d'œdème pulmonaire). Les anomalies auscultatoires cardiaques incluent tachycardies, arythmies, et parfois bruit de galop et/ou souffle systolique apexien gauche de grade 1 à 3/6, dû à une insuffisance valvulaire mitrale secondaire à la dilatation ventriculaire gauche (Dukes-McEwans *et al.*, 2003 ; Meurs, 2010c).

- Électrocardiogramme et examen de type Holter :

Des anomalies à l'ECG sont détectées chez la plupart des chiens souffrant de MCD.

L'ECG permet d'identifier des arythmies telles que des ESV gauches, une fibrillation atriale, une tachycardie ventriculaire, des anomalies de l'amplitude ou de la durée des ondes P et QRS (secondaires à la dilatation ventriculaire) ou des anomalies de conduction.

Cependant, un ECG normal ne permet pas d'affirmer que l'animal est indemne de MCD.

La pose d'un ECG de type Holter permet de mieux objectiver la fréquence des arythmies chez un chien présentant des symptômes cliniques de MCD et un ECG normal lors de la consultation (Dukes-McEwans *et al.*, 2003 ; Meurs, 2010c).

- Échocardiographie

Le diagnostic de MCD se base sur la mise en évidence de la dysfonction du myocarde (principalement systolique) et l'exclusion d'autres affections acquises ou congénitales. L'échocardiographie (en mode bidimensionnel (2D) et temps-mouvement (TM)) est la technique la plus utilisée en médecine vétérinaire pour confirmer la dysfonction myocardique ainsi que la dilatation ventriculaire et atriale.

Cette technique permet en effet de mesurer les dimensions de chacune des cavités cardiaques et de leurs parois, de quantifier la fonction systolique du ventricule gauche par la mesure de la fraction de raccourcissement et de la fraction d'éjection du ventricule gauche, et d'évaluer la fonction diastolique ainsi que la dilatation atriale associée à la dilatation ventriculaire (Figures 22 et 23).

Figure 22 : Coupe temps-mouvement petit axe transventriculaire obtenue par voie parasternale droite, chez un chien sain (A) et un chien Doberman femelle de 6 ans atteint de mycardiopathie dilatée (B) (Unité de Cardiologie d'Alfort).

VG : Ventricule gauche ; VD : Ventricule droit ; PLVG : Paroi libre du ventricule gauche ; SIV : Septum interventriculaire.

Noter la dilatation systolo-diastolique du ventricule gauche et la baisse d'inotropisme (fraction de raccourcissement = 13 % pour le chien B) chez le chien atteint de mycardiopathie dilatée.

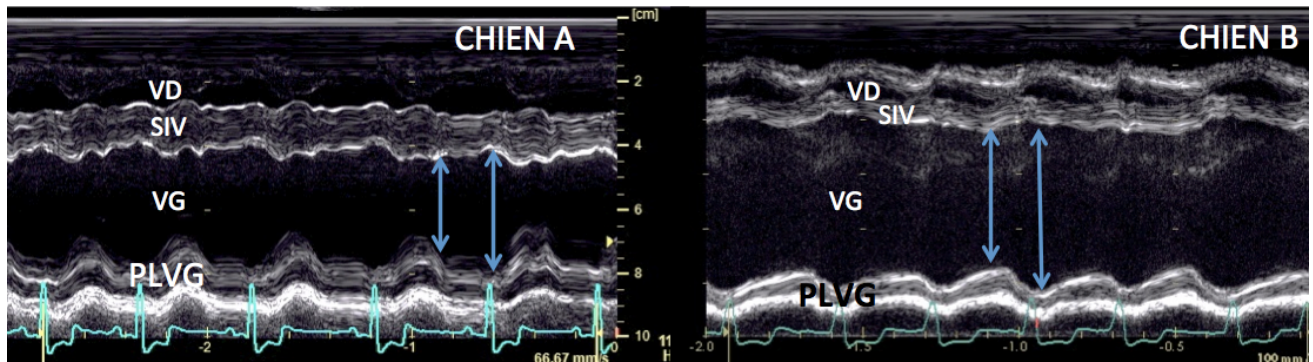
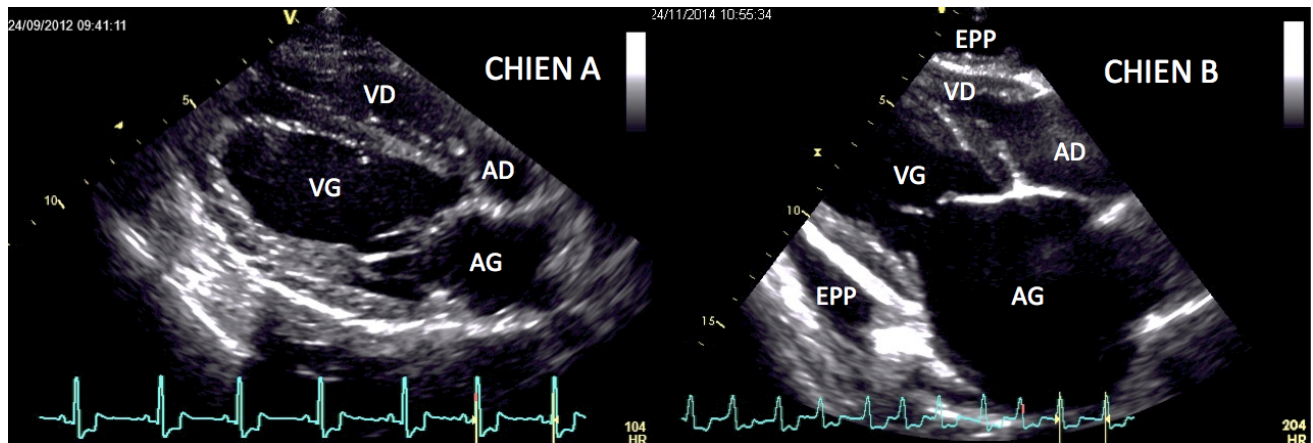


Figure 23 : Coupe bidimensionnelle grand axe 4 cavités obtenue par voie parasternale droite chez un chien sain (A) et un chien Doberman femelle de 6 ans atteint de mycardiopathie dilatée (B) (Unité de Cardiologie d'Alfort, 2014).

VG : Ventricule gauche ; VD : Ventricule droit ; AG : Atrium gauche ; AD : Atrium droit ; EPP : épanchement péricardique.

Noter la dilatation atriale et ventriculaire gauche marquée, ainsi que l'épanchement péricardique chez le chien B.



Le Doppler tissulaire myocardique (Figure 24) est une technique utilisée depuis 1989 chez l'homme, qui consiste à mesurer en temps réel les vitesses de déplacement d'une région donnée du myocarde, permettant ainsi l'analyse de la fonction myocardique régionale, à la fois systolique et diastolique. Différentes régions du myocarde sont étudiées : la paroi libre du ventricule gauche, le septum interventriculaire, et la paroi libre du ventricule droit. Pour chacun de ces segments, le mouvement radial (sur une coupe petit axe) et le mouvement longitudinal (sur une coupe grand axe) peuvent être étudiés (Chetboul 2002 ; Chetboul, 2010).

Trois modes sont utilisés en Doppler tissulaire : le mode 2D couleur, actuellement le plus utilisé, le mode pulsé, et le mode TM couleur.

Le Doppler tissulaire myocardique est une méthode fine d'analyse de la fonction myocardique régionale permettant dans certains cas un diagnostic précoce avant même

l'apparition des signes de dysfonction myocardique à l'échocardiographie conventionnelle. Les premières altérations au Doppler tissulaire lors de MCD sont une dysfonction systolique radiale de la paroi libre du ventricule gauche, avec une diminution du gradient endo-épicaire par diminution des vitesses sous-endocardiques.

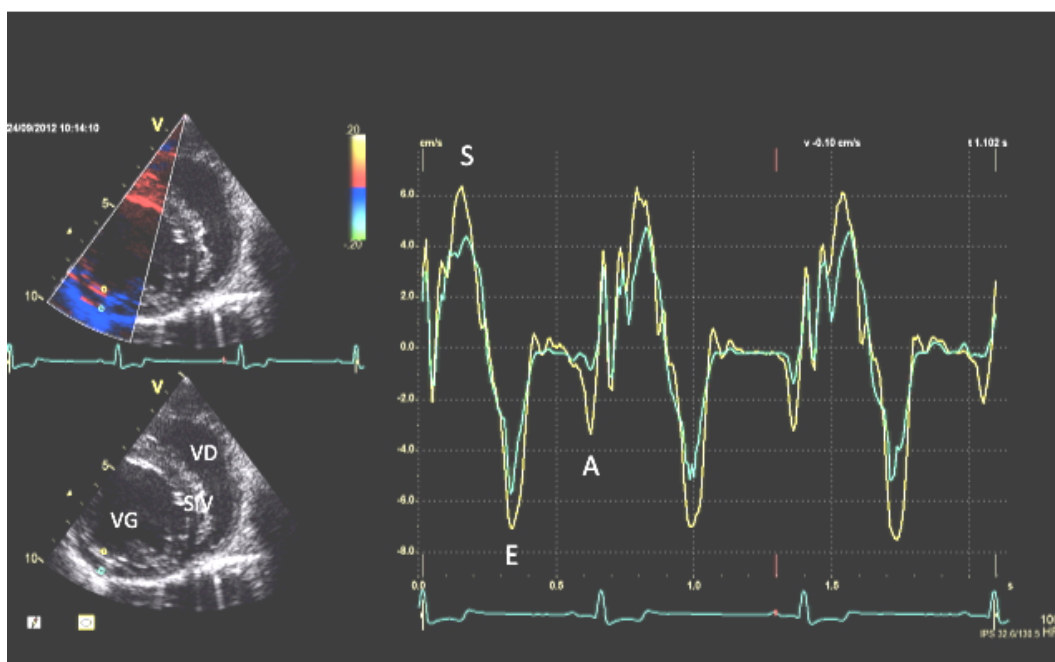
Une altération de la fonction systolique longitudinale du ventricule droit et une altération diastolique radiale et longitudinale de la paroi libre du ventricule gauche (diminution de l'amplitude des ondes E et inversion du rapport E/A) ont également été décrites (Chetboul *et al.*, 2007).

Le Doppler tissulaire myocardique est une technique très sensible, utile lors de dépistage de MCD ou lorsque les résultats de l'examen échocardiographique conventionnel sont équivoques. Chetboul et collaborateurs ont ainsi décrit le cas d'un Dogue Allemand de 1 an présentant une fraction de raccourcissement dans les valeurs inférieures de la norme, et des ESV isolées à l'ECG concomitant. L'examen échocardiographique conventionnel ne permettant pas de conclure de façon certaine à une MCD, un examen Doppler tissulaire myocardique a été réalisé et a permis de détecter une altération des vitesses systoliques radiales en région sous-endocardique, ainsi qu'une diminution du gradient endo-épicaire. Une diminution de la vitesse de l'onde protodiastolique E ainsi qu'une inversion du rapport E/A ont également été mises en évidence pour le mouvement radial de la paroi libre du ventricule gauche. Quatre mois plus tard, des signes de MCD étaient détectables à l'échocardiographie conventionnelle (diminution de la fraction de raccourcissement) (Chetboul *et al.*, 2004).

Figure 24 : Examen Doppler Tissulaire du mouvement radial de la paroi libre du ventricule gauche sur une coupe petit axe transventriculaire obtenue par voie parasternale droite, de deux points situés dans le myocarde en région sous-endocardique et sous-épicaire chez un Doberman sain (Unité de Cardiologie d'Alfort).

La courbe jaune et la courbe verte correspondent au déplacement des points situés respectivement sous l'endocarde et sous l'épicaire.

Onde S : onde systolique (positive); Onde E : onde protodiastolique (négative); Onde A : onde télédiastolique (négative).



- Évaluation des biomarqueurs cardiaques

Le dosage de la concentration sérique en BNP a été évalué chez le chien, dans le but de dépister les myocardiopathies « occultes » : il a été montré que les chiens asymptomatiques atteints de MCD avaient des concentrations plasmatiques en BNP plus élevées que les chiens sains (Oyama *et al.*, 2007).

Le dosage de la concentration sérique en cTnI a également été évalué chez le chien : cette méthode n'est pas pertinente dans le diagnostic précoce des MCD occultes, mais la concentration sérique en cTnI est corrélée à la gravité de l'atteinte myocardique. Ce biomarqueur a ainsi une valeur pronostique dans l'étude de la MCD chez le chien (Noszczyk-Nowak, 2011).

Le dosage de la concentration sérique des biomarqueurs cardiaques est donc utile en complément des examens clinique, échocardiographique, et électrocardiographique (Misbach et Chetboul, 2014).

- Examen post-mortem et histologie

À l'examen macroscopique, une dilatation globale des chambres cardiaques est visible. Cette dilatation concerne préférentiellement l'atrium et le ventricule gauches, mais dans les cas plus avancés de MCD, les quatre chambres peuvent être dilatées. La diminution d'épaisseur des parois est également visible macroscopiquement.

Il existe deux formes de MCD en fonction de leur apparence histologique :

- La **forme fibreuse atténuée** (Figure 25) : elle se caractérise par des cardiomyocytes plus petits que la normale (moins de 6 µm de diamètre) et des fibres musculaires en forme de vague en coupe longitudinale. Les myocytes ne sont pas jointifs, et un espace délimité rempli de fluide sans cellules, les sépare. Certaines fibres musculaires peuvent également être atrophiées.
- La **forme dégénérative** (Figure 26) : elle se caractérise par des infiltrations graisseuses et fibreuses, avec des myofibrilles dégénérées, des atrophies des myocytes, et est similaire chez le Doberman et le Boxer (Everett *et al.*, 1999).

Figure 25 : Forme fibreuse atténuée de myocardiopathie dilatée à l'examen histologique (Everett *et al.*, 1999).

Echantillon coloré à l'aide de la technique du Trichrome de Masson (hémalun, ponceau-fuchsine, bleu d'aniline). Noter l'atrophie des cardiomyocytes, les cellules non jointives, et la présence d'un espace rempli de fluide entre les cellules.

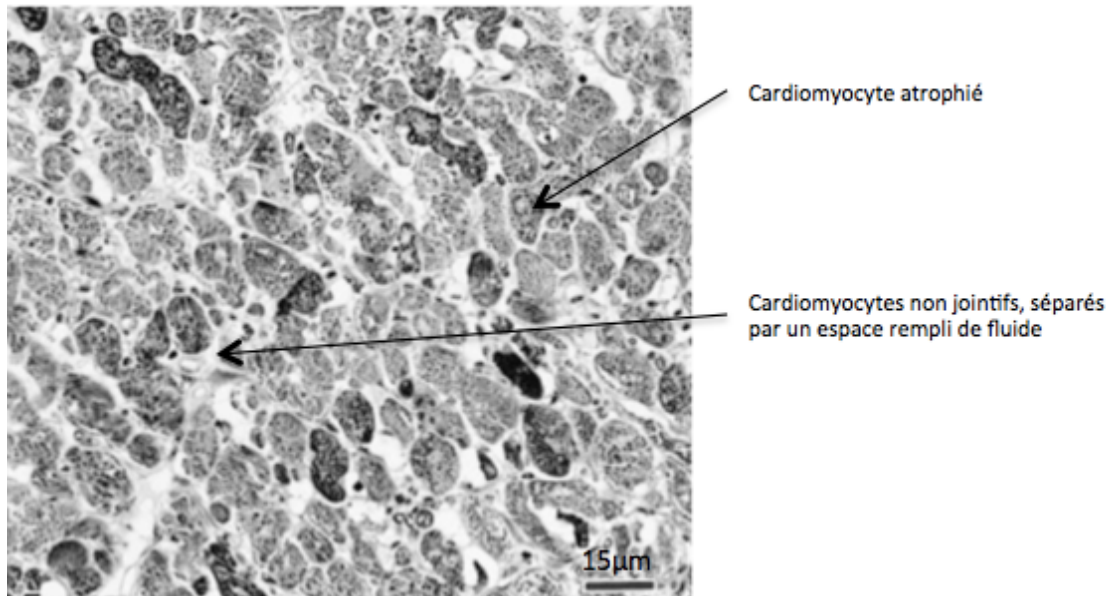
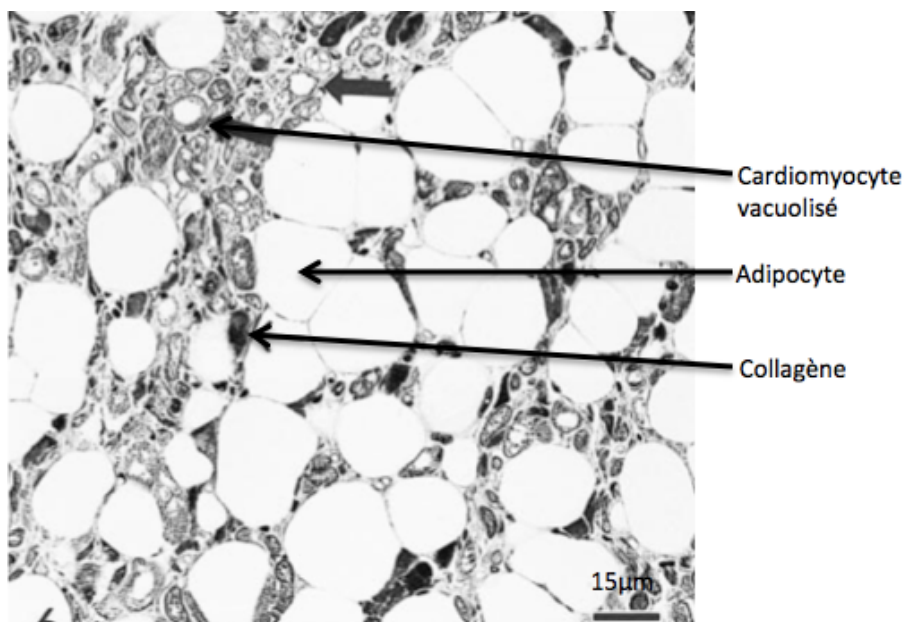


Figure 26 : Forme dégénérative de myocardiopathie dilatée à l'examen histologique (Everett *et al.*, 1999).

Echantillon coloré à l'aide de la technique du Trichrome de Masson. Remplacement presque total des cardiomyocytes par des adipocytes et une matrice de collagène.



2.2. Spécificités et déterminisme génétique de la myocardiopathie dilatée chez différentes races

2.2.1. La myocardiopathie dilatée chez le Boxer

Myocardiopathie arythmogène droite ou myocardiopathie dilatée ?

Une autre forme de myocardiopathie a également été décrite chez le Boxer : la MCD. Elle se caractérise par un dysfonctionnement systolique, une dilatation du ventricule gauche et des tachyarythmies (ESV gauches ou droites, fibrillation atriale), alors que l'ARVC est caractérisée par des tachyarythmies ventriculaires droites, des syncopes et parfois une mort subite, sans modification morphologique du cœur visible à l'échocardiographie conventionnelle. La MCD est détectable à l'examen échocardiographique, tandis qu'un animal atteint d'ARVC ne présente que peu ou pas de modifications à l'examen échocardiographique (Meurs *et al.*, 2013).

Le lien entre ARVC et MCD n'a pas encore été précisément établi : ces deux cardiopathies pourraient constituer une même entité pathologique, la MCD serait alors une forme évoluée de l'ARVC, ou l'étiologie de chacune d'elle pourrait être différente (Meurs *et al.*, 2013).

Données génétiques concernant la myocardiopathie dilatée aux États-Unis

Dans les lignées américaines de Boxers, une délétion touchant le gène codant pour la striatine est associée significativement à l'ARVC (*Partie 3, A, 2*).

L'équipe du Dr Meurs a étudié la corrélation entre la présence de la délétion de la striatine et la présence de MCD chez des chiens Boxers américains (Meurs *et al.*, 2013). Dans une cohorte de 33 Boxers atteints de MCD et 16 chiens indemnes de MCD et d'ARVC, 30 des 33 chiens atteints de MCD étaient porteurs de la délétion de la striatine (15 homozygotes mutés et 15 hétérozygotes), et trois chiens atteints ne portaient pas la délétion. Parmi les chiens indemnes, 11 étaient homozygotes sauvages et cinq étaient hétérozygotes pour la délétion. Ainsi, la délétion de la striatine est associée à la MCD dans cette cohorte de Boxers américains. Cependant, trois chiens atteints de MCD ne portaient pas la mutation, ceci suggérant qu'une autre étiologie pour la MCD existe dans les lignées américaines de la race (Meurs *et al.*, 2013). Ainsi, chez les Boxers américains, il semble qu'ARVC et MCD puissent en partie être expliquées par une mutation dans le gène de la striatine et que les chiens Boxers portant une mutation du gène codant la striatine soient prédisposés à développer des myocardiopathies soit de type ARVC, soit de type MCD.

Différences entre Boxers américains et Boxers européens

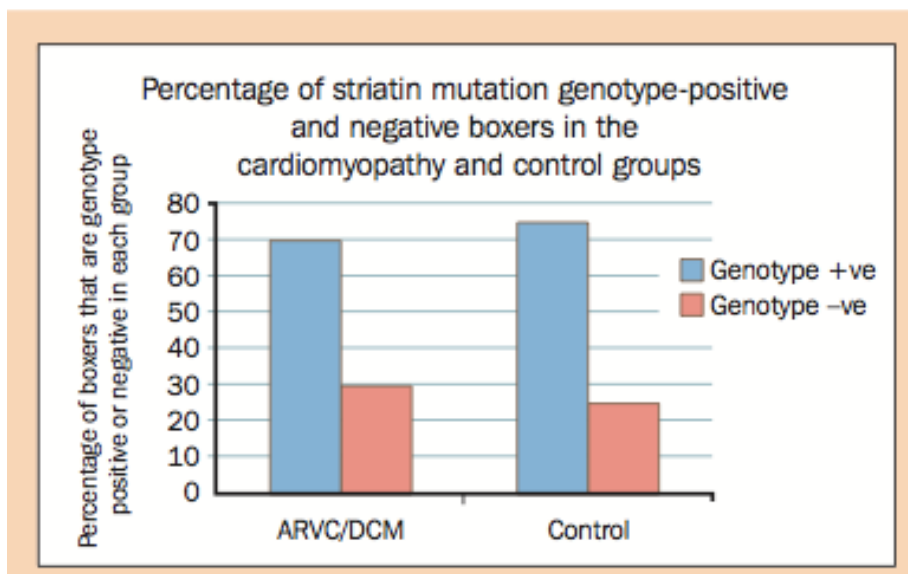
Les études aux États-Unis (Meurs *et al.*, 2009a) et au Royaume-Uni (Palermo *et al.*, 2011) ont décrit les caractéristiques des myocardiopathies (ARVC et MCD) du Boxer : malgré de nombreuses similitudes entre les lignées américaines et britanniques, la forme caractérisée par une dilatation ventriculaire et une IC congestive (MCD) est beaucoup moins fréquente dans les lignées américaines que dans les lignées britanniques, pour lesquelles cette forme est majoritaire (Palermo *et al.*, 2011). Ces différences permettent de supposer l'existence d'une physiopathologie différente pour les myocardiopathies touchant les lignées européennes et américaines. Il est donc probable que différentes mutations soient à l'origine des myocardiopathies du Boxer.

Les études actuelles n'ont pas encore permis de déterminer l'origine génétique des myocardiopathies dans les lignées européennes. L'équipe de Dukes-McEwan (University of Liverpool, 2010) a néanmoins montré, dans le cadre du projet LUPA, que l'ARVC et la MCD n'étaient pas associées à la présence de la mutation du gène codant la striatine dans des lignées anglaises de Boxers. L'absence d'association a été démontrée chez 84 Boxers (de lignées

anglaises), dont 60 étaient atteints d'ARVC ou de MCD. La mutation était présente chez 71,4 % des 84 chiens étudiés, mais n'était pas associée au statut atteint/indemne d'ARVC ou de MCD (Figure 27).

Figure 27 : Comparaison du pourcentage de chiens de race Boxer possédant la mutation de la striatine (homozygote ou hétérozygote : génotype +ve) ou pas (génotype -ve) chez les chiens atteints de myocardiopathie arythmogène droite (ARVC) ou de myocardiopathie dilatée (MCD) et chez les chiens indemnes (chiens « Control ») (Dukes-McEwans *et al.*, 2010).

Aucune différence significative entre les deux groupes n'a été mise en évidence ($p = 0,849$).



Enfin, d'autres études sont également nécessaires afin de déterminer si les trois formes de myocardiopathie décrites par Harpster en 1983 correspondent à différents stades de la maladie ou si ces formes sont l'expression de mutations différentes.

2.2.2. La myocardiopathie dilatée chez le Doberman

Quelques mots sur le Doberman

Le Doberman (Figure 28) a été créé en Allemagne il y a 150 ans, par Friedrich Louis Dobermann. Il s'agit d'un chien destiné à défendre et possédant d'excellentes capacités au mordant. Les Dobermans sont très utilisés comme chiens de garde, chiens de protection des troupeaux et chiens de police. La morphologie du Doberman a été très peu modifiée depuis sa création. Ce chien très longiligne, de taille moyenne, et très musclé, a néanmoins une silhouette relativement fine. Son museau est long et ses oreilles sont tombantes, quand elles ne sont pas dressées en raison de leur coupe fréquente. La robe est exclusivement noire ou marron, avec des marques feu bien délimitées sur des zones précises (FCI, 1994).

Les lignées de Dobermans sont toutes très proches les unes des autres. Cette race a en effet été créée en Allemagne à partir d'un faible nombre de chiens et est restée très fermée aux croisements (Mausberg *et al.*, 2011). Il a également été montré que, depuis le début des années 1950, la moitié des Dobermans enregistrés au club de race américain proviennent d'une unique lignée. Lorsque plusieurs chiens appartenant à une même lignée sont atteints de MCD, il est

donc fortement probable que l'origine génétique de la cardiopathie chez ceux-ci est identique (O'Sullivan *et al.*, 2011).

Figure 28 : Chien de race Doberman (Club Belge du Doberman, 2014).



Prévalence et épidémiologie de la myocardiopathie dilatée chez le Doberman

Le Doberman est atteint d'une forme spécifique de MCD. Cette forme se caractérise par l'apparition relativement précoce d'arythmies, avant les premières modifications du myocarde visibles à l'échocardiographie. La prévalence de la MCD dans les lignées européennes de Doberman a été évaluée à 58,2 %, et la maladie atteint de manière équivalente les mâles et les femelles (Wess *et al.*, 2010a). Dans les lignées américaines de Dobermans, la prévalence atteint 63,7 % (O'Grady, 1998).

Cette maladie se déclare en général à l'âge adulte, les Dobermans atteints développant une IC congestive à un âge moyen de 6,7 ans (Mausberg *et al.*, 2011). Néanmoins, les symptômes de MCD peuvent apparaître dès l'âge d'un an, ou tardivement après l'âge de 8 ans. (Mausberg *et al.*, 2011). Des formes juvéniles de MCD sont également décrites : Vollmar et collaborateurs ont étudié une portée de 8 jeunes Dobermans dans laquelle 6 chiots ont développé la cardiopathie entre 10 jours et 4 semaines d'âge, avec apparition d'IC congestive entre 10 jours et 11 semaines d'âge (Vollmar *et al.*, 2003).

Présentation clinique de la myocardiopathie dilatée chez le Doberman

Il existe deux formes de MCD chez le Doberman :

- Une forme **rythmique**, caractérisée par des arythmies ventriculaires gauches : les symptômes sont dans ce cas l'intolérance à l'effort, la syncope voire une mort brutale.
- Une forme **morphologique**, caractérisée par une hypocontractilité et une dilatation ventriculaire gauche. Des arythmies ventriculaires ou supra-ventriculaires (fibrillation atriale) peuvent être associées : cette forme morphologique évolue en IC congestive et circulatoire.

Certains Dobermans peuvent présenter une forme mixte (rythmique et morphologique). Une évolution de la forme rythmique vers la forme morphologique est également décrite. Il a été prouvé dans cette race que des arythmies (ESV gauches) précèdent parfois de plusieurs mois à plusieurs années l'apparition de signes échocardiographiques de MCD. L'examen Holter est donc indispensable pour les tests de dépistage de cette cardiopathie (Dukes-McEwans *et al.*, 2003). Des arythmies sont en général plus fréquemment observées chez les Dobermans atteints que les chiens d'autres races (Mausberg *et al.*, 2011).

Évaluation des biomarqueurs cardiaques

Le NT-proBNP et la cTnI ont été particulièrement étudiés dans le cadre de la MCD chez le Doberman. Les concentrations plasmatique en NT-proBNP et en cTnI sont significativement plus élevée chez les Dobermans atteints de MCD par rapport aux Dobermans contrôles (Wess *et al.*, 2010b ; *et al.*, 2011).

Concernant la détection du stade occulte seul le NT-proBNP a été étudié. La sensibilité et la spécificité de détection de ce dosage utilisé seul ne sont pas suffisantes pour en faire un outil de dépistage. Associé à un examen Holter de dépistage, le dosage de la concentration sérique en NT-proBNP possède, en revanche, une bonne sensibilité (94,5 %) et une bonne spécificité (87,8 %) pour le dépistage de la MCD occulte (Singletari *et al.*, 2012).

Données génétiques concernant la myocardiopathie dilatée chez le Doberman, aux États-Unis

La MCD chez le Doberman est une maladie à transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète (Meurs *et al.*, 2007a).

En raison de la présence fréquente d'arythmies ventriculaires et de morts subites chez les Dobermans atteints de MCD, les gènes codant les canaux ioniques permettant la transmission du signal électrique au sein du muscle cardiaque sont d'excellents gènes candidats pour la recherche de(s) mutation(s) à l'origine de MCD dans la race (Stabej *et al.*, 2005).

Plusieurs origines génétiques ont été mises en évidence pour la MCD humaine : des mutations affectant les gènes codant pour les protéines contractiles et causant un défaut de génération des forces ont été décrites (protéine actine, myosine, MYBP-C, troponine T). Des mutations des gènes codant les protéines de structure, responsables de la transmission des forces de contraction (protéines titine, desmine, dystrophine, dystroglycane, sarcoglycane) ont également été décrites. Enfin, la MCD chez l'homme est aussi causée par d'autres mutations des gènes codant les protéines impliquées dans le métabolisme du Ca^{2+} (phospholambane et SERCA2), entraînant une diminution de la disponibilité en Ca^{2+} ou de la sensibilité au Ca^{2+} , ainsi que des protéines impliquées dans la régulation énergétique, ceci entraînant des déficits énergétiques (O'Sullivan *et al.*, 2011).

Le tableau clinique de la MCD chez le Doberman étant similaire à celui de l'homme, de nombreuses études de type gène candidat ont été effectuées à partir des résultats obtenus chez l'homme, sans succès. Des études de type GWAS ont également été réalisées plus récemment.

Il existe plusieurs lignées de Dobermans, notamment aux États-Unis et en Europe. Des études ont ainsi été conduites sur les deux continents, et ont abouti à des résultats différents.

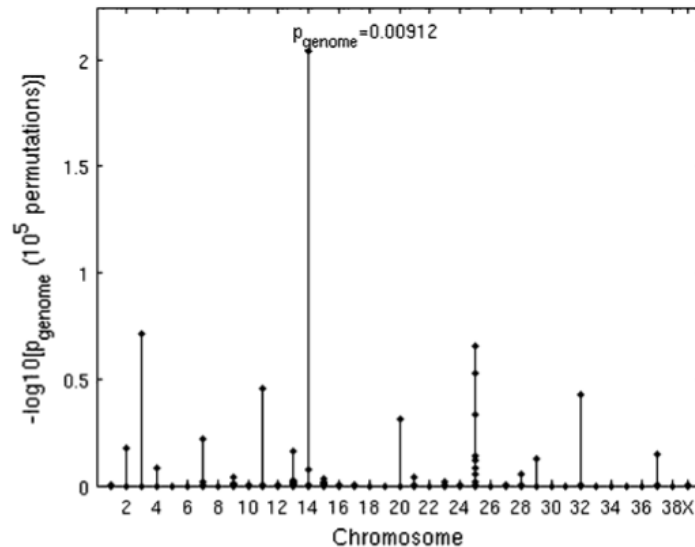
Les recherches entreprises **aux États-Unis** ont permis d'exclure de nombreux gènes par la technique du gène candidat notamment les gènes codant la desmine (*DES*), le phospholambane (*PLN*), l'actine cardiaque (*ACTC1*), la lamine A/C (*LMNA*), la chaîne β du filament lourd de myosine (*MYH7*), le gène codant la troponine T (*TNNT2*), la troponine C (*TNNC1*), la troponine I (*TNNI3*), la tropomyosine (*TPM1*), le δ -sarcoglycane (*SGCD*), la métavinculine (*VCL*), la protéine 3 riche en cystéine (*CSRP3*) et les gènes *CAV1*, *LDB3*, et *TCAP*. Ces gènes ne sont donc pas impliqués dans la MCD chez le Doberman (Stabej *et al.*, 2004, Mausberg *et al.*, 2011, O'Sullivan *et al.*, 2011).

Une étude de type GWAS a été réalisée en 2012 par l'équipe du Dr Meurs, incluant 66 chiens de race Doberman atteints de MCD, 66 chiens de race Doberman âgés de plus de 10 ans et indemnes de MCD et 100 chiens sains appartenant à d'autres races. Le criblage du génome à

l'aide de marqueurs génétiques a permis de localiser un locus de 0,3 Mb ségrégant avec la maladie et situé sur le chromosome canin 14 (Figure 29).

Figure 29 : Graphique de type Manhattan Plot représentant les loci associés significativement avec la myocardiopathie dilatée dans des lignées américaines de Dobermans (Meurs *et al.*, 2012).

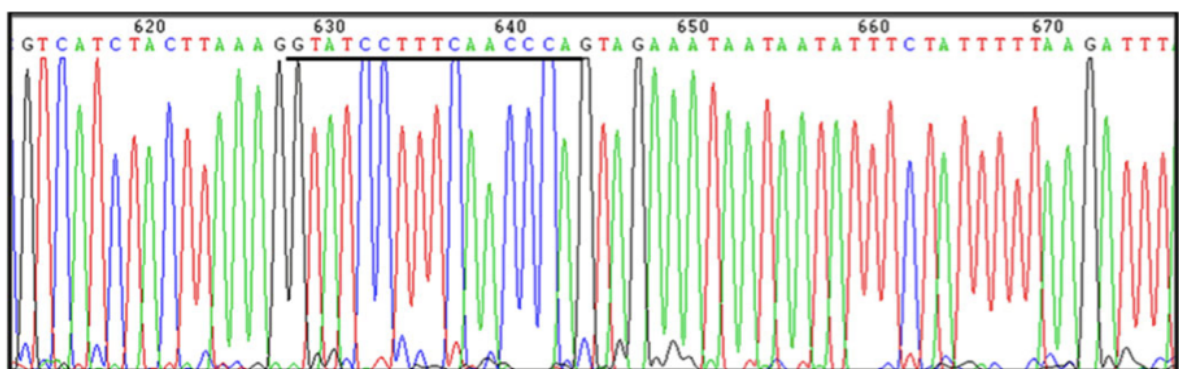
Le chromosome 14 est significativement associé à la maladie.



Le séquençage de 13 SNP supplémentaires, localisés sur la zone candidate, a permis de réduire la zone d'intérêt à une zone de 10 kb sur laquelle se trouvait un unique gène : le gène *PDK4* (*pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4*). Le gène *PDK4* a été séquencé chez des Dobermans atteints de MCD et des Dobermans sains, mettant en évidence chez les Dobermans atteints une délétion de 16 pb dans un intron du gène (Figure 30).

Figure 30 : Extrait du chromatogramme du séquençage d'une partie du gène PDK4, chez un chien atteint de myocardiopathie dilatée (Meurs *et al.*, 2012).

Le séquençage a permis de mettre en évidence une délétion de 16 paires de bases (séquence délimitée par la barre noire).



Cette étude a donc permis d'identifier, dans des cohortes américaines de Dobermans, une association significative entre la MCD et une délétion de 16 pb située en partie 5' de l'intron 10 du gène codant l'isoenzyme 4 de la Pyruvate Deshydrogenase Kinase (*PDK4*). La délétion intervient sur le site donneur d'épissage de l'intron 10 du gène *PDK4*. Le génotypage d'une cohorte de 132 Dobermans pour la délétion a permis de la mettre en évidence chez 54 des 66 chiens atteints de MCD (45 hétérozygotes et 9 homozygotes mutés) et chez 26 des 66 chiens indemnes (18 hétérozygotes et 8 homozygotes mutés) (Meurs *et al.*, 2012).

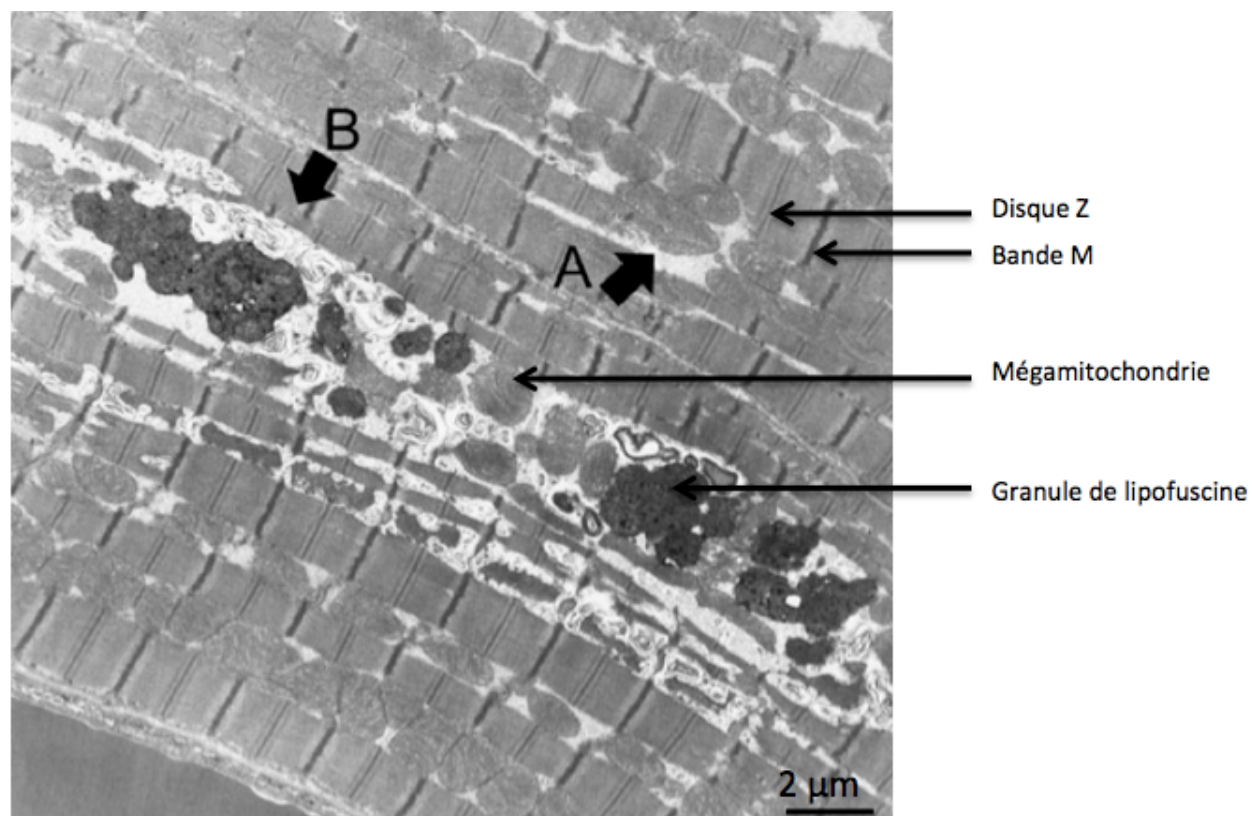
Les études d'expression réalisées n'ont pas montré une diminution de l'expression globale de l'ARNm du gène *PDK4* chez les chiens mutés, mais une diminution d'un facteur 14 de l'expression des exons 10 et 11 (adjacents à l'intron 10 sur le gène *PDK4*) a pu être mise en évidence. Aucune différence d'expression protéique n'a été mise en évidence entre les chiens atteints de MCD et les chiens indemnes (en Western blot). L'exon 11 du gène *PDK4* code une séquence « DW » hautement conservée de la protéine, et il a été prouvé auparavant qu'une altération de cette séquence « DW » entraînait une diminution marquée de l'activité de la protéine PDK4. Aucune étude de l'activité de PDK4 chez le Boxer n'a cependant été réalisée (Meurs *et al.*, 2012).

La protéine PDK4 possède un rôle important dans la régulation du métabolisme énergétique de la cellule cardiaque. Sa capacité à phosphoryler la pyruvate déshydrogénase diminue le processus de glycolyse et favorise la β -oxydation des acides gras, produisant plus d'énergie que la glycolyse.

De plus, des observations réalisées au microscope électronique sur des échantillons de myocarde provenant de cœurs de Dobermans atteints de MCD ont montré une désorganisation de la ligne Z des sarcomères, une dilatation modérée du réticulum sarcoplasmique, des altérations des mitochondries avec la présence de méga-mitochondries ainsi que des mitochondries dispersées présentant des modifications de conformation en spirales et des accumulations de granules de lipofuscines (Figure 31).

Figure 31 : Observation au microscope électronique du myocarde d'un Doberman atteint de myocardiopathie dilatée (Meurs *et al.*, 2012).

La photo montre des mitochondries fortement pléiomorphes avec notamment des mégamitochondries (A) et des mitochondries présentant des modifications de conformation et l'accumulation de granules de lipofuscine (B).



Comme précédemment expliqué, aucune étude d'activité de la protéine normale et mutée chez le chien n'a pu être effectuée. Néanmoins, il semble fort probable que cette délétion de 16 pb touchant le gène *PDK4* engendrerait une diminution de l'activité de la protéine PDK4, et ainsi une diminution de l'inhibition de la glycolyse. La voie métabolique majoritaire chez le Doberman atteint de MCD serait alors la glycolyse, et la β -oxydation des acides gras serait négligeable. Comme la glycolyse est une voie métabolique produisant une quantité moindre d'énergie par rapport à la β -oxydation des acides gras, le myocarde se retrouverait ainsi en déficit énergétique. Ce déficit énergétique serait notamment à l'origine des modifications histologiques visibles sur les mitochondries (Meurs *et al.*, 2012).

Enfin, même si l'association entre la mutation et la maladie est significative, 18 % des chiens malades étudiés ne possédaient pas cette mutation. Cela corrobore l'hypothèse selon laquelle plusieurs mutations distinctes peuvent être à l'origine d'un même tableau clinique. Chez l'homme, plus de 30 gènes sont connus pour être associés à la maladie.

De plus, la pénétrance de la mutation du gène *PDK4* dans la population de Dobermans étudiés était de 68 %, confirmant la pénétrance incomplète de la maladie (Meurs *et al.*, 2012).

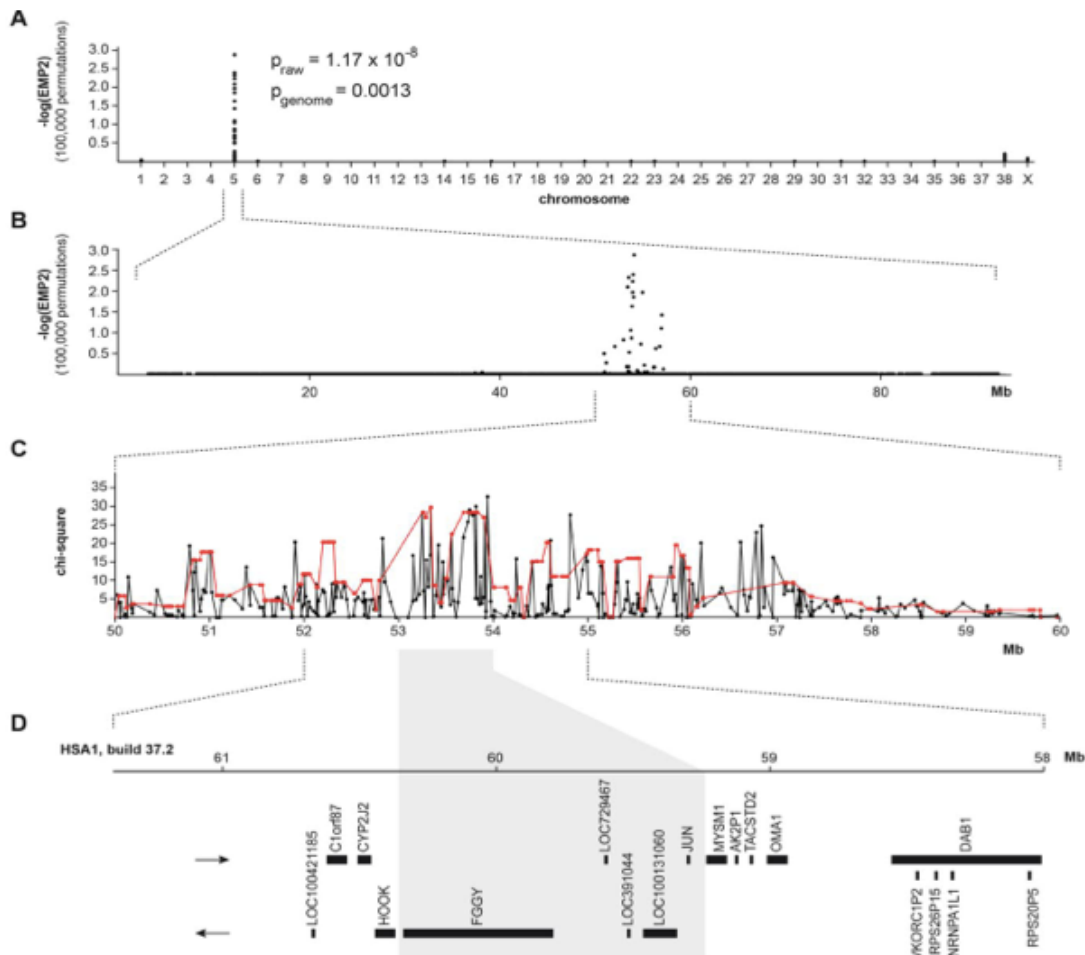
Données génétiques concernant la myocardiopathie dilatée chez le Doberman, en Europe

En Europe, la mutation du gène *PDK4* a été testée chez 86 Dobermans atteints de MCD (71 chiens allemands et 15 chiens britanniques) et 94 Dobermans sains (70 chiens allemands et 24 chiens britanniques), ainsi que sur 490 chiens de 89 races différentes. La fréquence de la mutation était relativement basse au sein du groupe d'animaux testés et il n'y avait pas de différence significative entre la fréquence de la mutation chez les Dobermans allemands et britanniques atteints de MCD (20 % et 7 %, respectivement) et les Dobermans indemnes (16 % et 8 % respectivement). De plus, la mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez 21 chiens non Doberman. Cette étude a permis de montrer que la mutation associée à la MCD dans une cohorte de 132 Dobermans de lignées américaines n'est pas associée à la MCD dans les lignées européennes de Dobermans (Owczarek-Lipska *et al.*, 2012).

En Europe, le projet LUPA a notamment porté sur la MCD chez le chien de race Doberman. La cohorte de chiens « sains » était composée de Dobermans âgés (en raison de l'apparition tardive de la maladie). Cette étude s'est basée sur la méthode GWAS, effectuée sur un total de 71 Dobermans allemands et 15 Dobermans anglais atteints de MCD, ainsi que 70 Dobermans allemands et 21 Dobermans anglais indemnes de MCD (âges moyens de 9,3 et 8,5 ans respectivement), tous appartenant à des lignées européennes (Allemagne et Royaume-Uni). Les résultats ont permis de mettre en évidence une zone de 1 Mb (entre la position 53 Mb et 54 Mb) sur le chromosome 5, significativement associée à la MCD chez le Doberman. L'association était maximale ($p=0,007$) avec le statut « atteint de MCD » pour le SNP "TIGRP2P73097" en position 53 941 386 et caractérisé par une base azotée cytosine (Figure 32). Une étude de type "gène candidat" a été effectuée, par comparaison avec les connaissances du génome humain, en restreignant l'analyse à la zone d'intérêt. Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence de gène candidat (Mausberg *et al.*, 2011).

Figure 32 : Résultat de l'étude européenne de type Genome Wide Association Study chez des Dobermans atteints ou non de myocardiopathie dilatée (Mausberg *et al.*, 2011).

Cette étude a montré une association significative entre l'atteinte de myocardiopathie dilatée et certains marqueurs de type Single Nucleotide Polymorphism (SNP) présents sur le chromosome 5 (A). La restriction au chromosome 5 a permis de mettre en évidence une zone de 7 Mb dans laquelle se situent les SNP les plus fortement associés à la cardiopathie (B). L'analyse des fréquences alléliques pour chacun des SNP et des différents haplotypes chez les chiens étudiés a permis de restreindre la zone d'intérêt à la position 53-54 Mb sur le chromosome 5. Différents gènes localisés à proximité de ce locus chez l'homme ont été testés chez le Doberman, sans succès à ce jour.



La race Doberman étant restée une race « très fermée », la MCD chez le Doberman est beaucoup moins hétérogène que chez l'homme, pour lequel plus qu'une quarantaine de mutations à l'origine de MCD ont déjà été mises en évidence sur plus de 40 gènes différents (Mausberg *et al.*, 2011 ; Garcia-Pavia *et al.*, 2013). Cependant, même si une association significative a été mise en évidence entre le SNP TIGRP2P73097 sous sa forme "C" (cytosine) et le fait d'être atteint de MCD, l'étude LUPA a montré que 50 % des chiens malades ne présentaient pas cette association et possédaient le SNP non associé à la maladie (SNP sous son allèle "T", Thymine) (Figure 33). Il est donc probable qu'il existe chez le Doberman européen d'autres mutations responsables de la MCD, ségrégant dans une proportion moins importante de la population. L'association avec la maladie est par conséquent plus difficile à évaluer pour ces mutations, en raison du nombre trop faible d'animaux étudiés. Comme seuls 50 % des animaux étudiés atteints de MCD présentaient une association de la maladie avec la zone identifiée sur le chromosome 5, il reste plus prudent de parler de facteur de risque de développer la MCD plutôt que de locus causal (Mausberg *et al.*, 2011).

Figure 33 : Fréquence des différents génotypes pour le marqueur de type Single Nucleotide Polymorphism (SNP) TIGRP2P73097 dans les différents groupes de Dobermans testés dans le cadre de l'étude LUPA (Mausberg *et al.*, 2011).

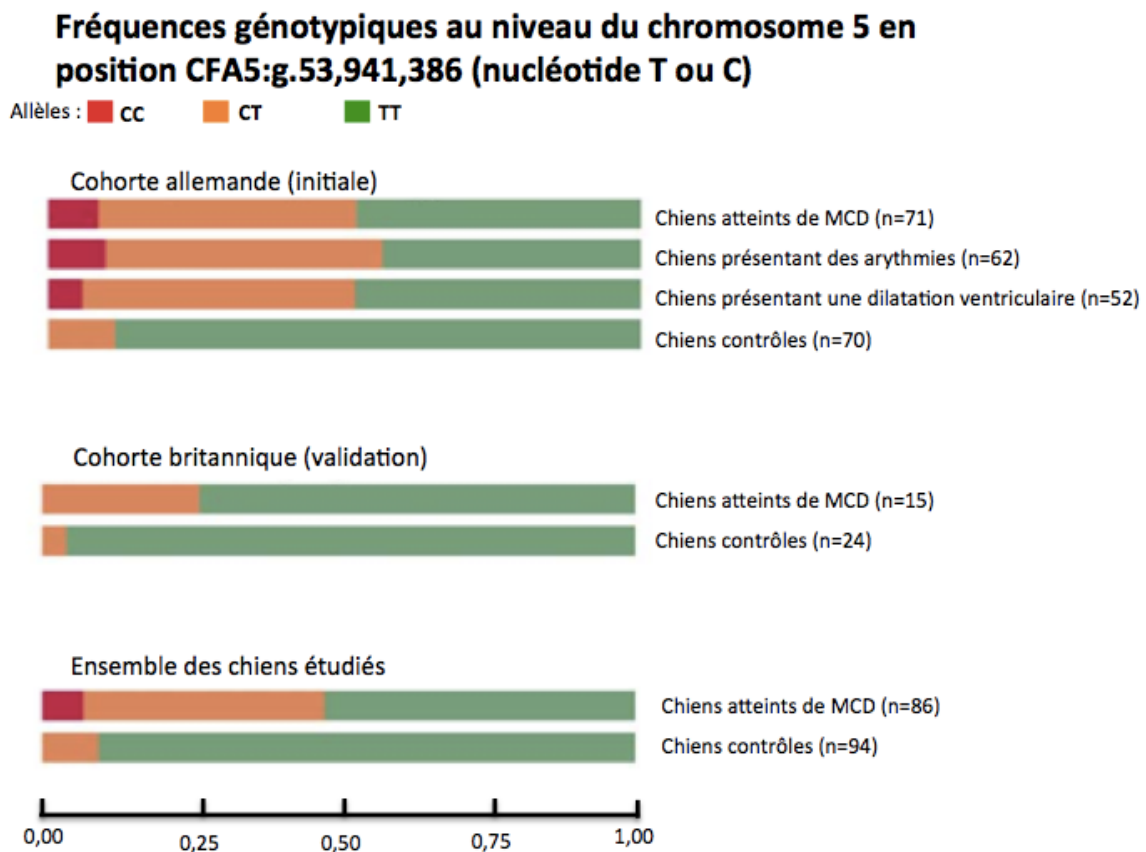
CC : homozygote pour la base azotée cytosine ; CT : hétérozygote cytosine /thymine ; MCD : myocardiopathie dilatée ; SNP : Single Nucleotide Polymorphism ; TT : homozygote pour la base azotée thymine.

Au sein de la cohorte allemande, environ la moitié des chiens atteints de MCD (toutes formes confondues) sont porteurs hétérozygotes de l'allèle C et 8 % des chiens sont porteurs homozygotes de cet allèle. En revanche, tandis que certains chiens de la cohorte contrôle sont porteurs hétérozygotes de l'allèle C, aucun d'entre eux n'est porteur homozygote de cet allèle.

Au sein de la cohorte anglaise (effectif plus faible), environ un quart des chiens atteints de MCD sont porteurs hétérozygotes de l'allèle C, tandis qu'aucun n'est porteur homozygote de l'allèle C.

Considérant l'ensemble des chiens étudiés, la moitié des chiens atteints de MCD est hétérozygote ou homozygote, alors qu'à peine 10 % des chiens contrôles sont porteurs de l'allèle C.

Ces résultats montrent l'association significative entre l'allèle C pour le SNP TIGRP2P73097 et le phénotype MCD chez le Doberman.



Ainsi, la MCD chez le Doberman est une maladie génétiquement hétérogène, dont l'étiologie moléculaire reste en partie à élucider.

2.2.3. La myocardiopathie dilatée chez le Dogue Allemand

Quelques mots sur le Dogue Allemand

Le Dogue Allemand (Figure 34) est une race très ancienne, descendant des grands Dogues utilisés pour la chasse il y a 3 000 ans. La race a été officiellement créée en 1878 par des juges canins allemands qui définirent le standard de la race. Le Dogue Allemand est un très grand chien, mesurant entre 80 et 90 centimètres au garrot pour les mâles et entre 72 et 84 cm au garrot pour les femelles. Sa tête est relativement étroite, et son chanfrein est allongé et large. Il s'agit d'un chien très musclé, à l'ossature robuste. Le Dogue Allemand a un poil court, et plusieurs couleurs de robe sont acceptées : fauve, fauve bringé, arlequin, noir et bleu.

Figure 34 : Chien de race Dogue Allemand possédant une robe de type arlequin (Club de Race Français du Dogue Allemand, 2014).



Prévalence et épidémiologie de la myocardiopathie dilatée chez le Dogue Allemand

Il a été montré que la prévalence de la MCD était de 35,9 % dans une population de 107 Dogues Allemands provenant de lignées britanniques. Les chiens atteints avaient un âge moyen de sept ans (Stephenson *et al.*, 2012).

Les mâles sont plus fréquemment atteints que les femelles. L'âge au diagnostic de la maladie est compris entre 1,5 et 8 ans (Meurs *et al.*, 2001).

Présentation clinique de la myocardiopathie dilatée chez le Dogue Allemand

Les premiers signes fonctionnels de MCD chez le Dogue Allemand sont une perte de poids, et de la toux (par IC gauche) (Meurs *et al.*, 2001). L'examen clinique peut également révéler de l'ascite, signe physique d'IC droite et globale.

Un souffle systolique apexien gauche et un bruit de galop sont souvent détectés à l'auscultation chez le Dogue Allemand atteint de MCD (Meurs *et al.*, 2001).

L'examen ECG révèle fréquemment une fibrillation atriale avec quelques ESV isolées, parfois même avant l'apparition de modifications morphologiques cardiaques.

Données génétiques concernant la myocardiopathie dilatée chez le Dogue Allemand

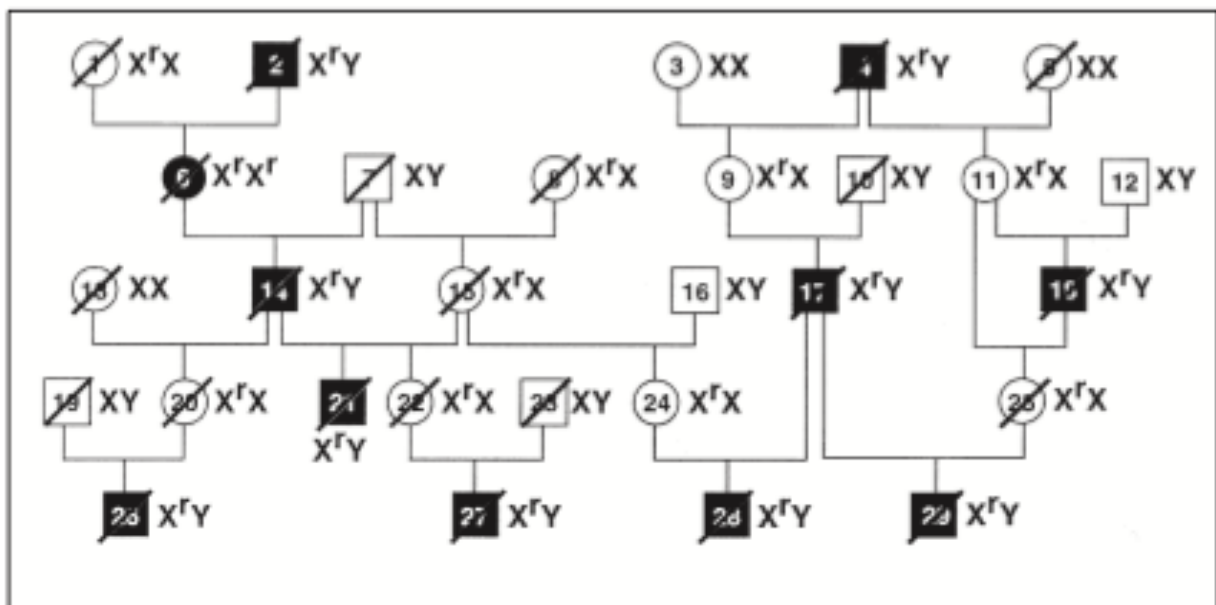
La MCD chez le Dogue Allemand est une maladie à ségrégation familiale (Meurs *et al.*, 2001).

Un mode de transmission **lié à l'X** est la principale hypothèse concernant les **lignées américaines** de Dogue Allemand, en raison de la surreprésentation des mâles atteints dans une étude menée sur un total de 17 chiens de race Dogue Allemand atteints de MCD. Une étude rétrospective des pedigrees a permis de démontrer que 11 de ces chiens appartenaient à la même famille (une femelle et dix mâles). L'analyse du pedigree des chiens atteints (Figure 35) a permis d'exclure les modes de transmission autosomiques récessif (en raison du pourcentage important de chiens atteints dans la famille, du fait que la maladie ne sautait pas de génération et à cause du déséquilibre mâles/femelles atteints par celle-ci) et dominant à pénétrance complète (car deux parents sains possédaient une descendance atteinte par la maladie). De plus, la fréquence bien plus importante de mâles atteints comparée à celle des femelles n'était pas en faveur d'un mode de transmission autosomique. Le pedigree étudié était plutôt en faveur d'un mode de transmission récessif lié à l'X (Meurs *et al.*, 2001).

Figure 35 : Pedigree d'une famille américaine de Dogues Allemands dans laquelle ségrégue une myocardiopathie dilatée (Meurs *et al.*, 2001).

Les cercles représentent les chiens femelles, les carrés représentent les mâles. Un symbole noir représente un chien atteint de MCD. Un symbole blanc représente un chien non atteint de MCD. Un symbole barré signifie que l'animal est décédé. Les génotypes indiqués ont été déterminés selon l'hypothèse d'un mode de transmission récessif lié à l'X. XX : femelle non atteinte ; XY : mâle non atteint ; X^rX : femelle porteuse ; X^rY : mâle atteint ; X^rX^r = femelle atteinte.

Cette famille a permis de suggérer un mode de transmission lié à l'X.

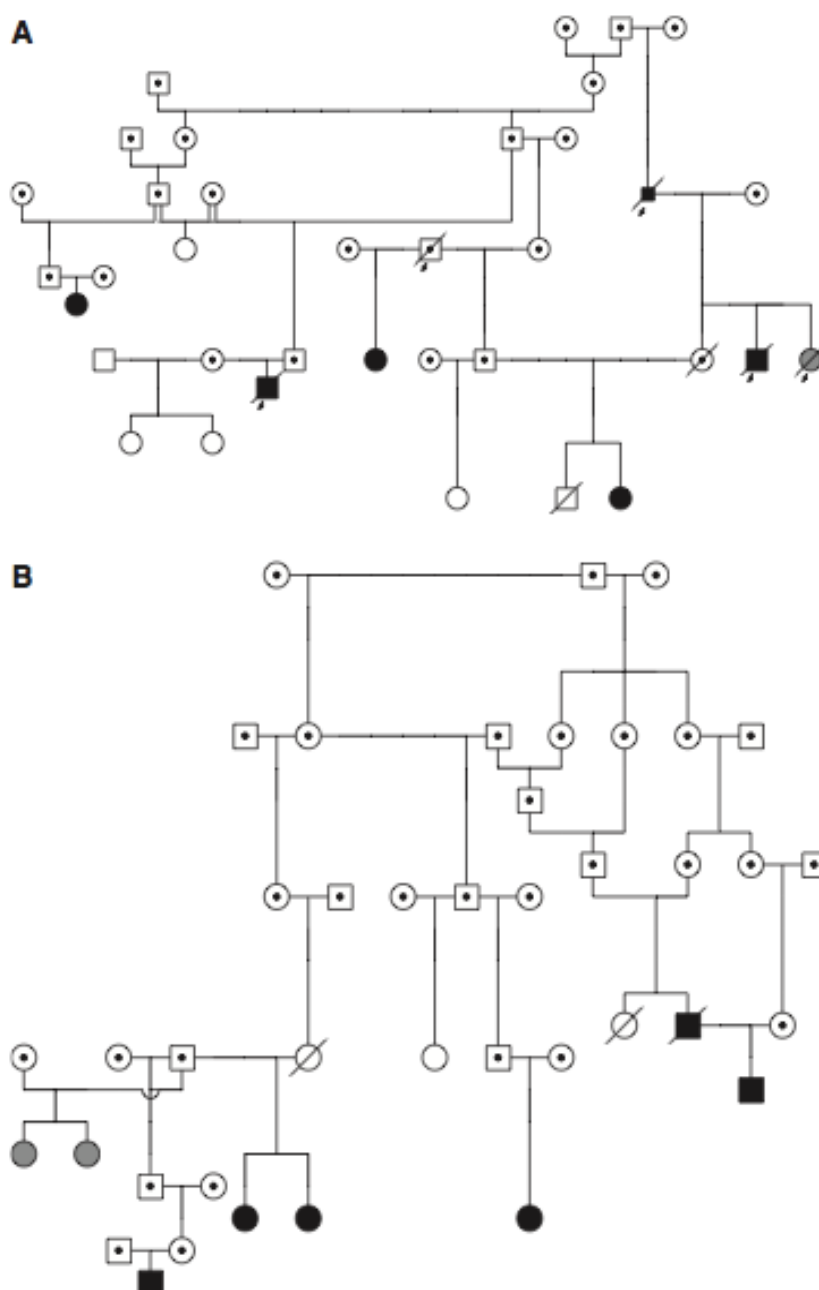


Il semble cependant que l'étiologie génétique de la MCD chez le Dogue Allemand soit multiple en fonction des lignées. Une étude réalisée sur un total de 107 **chiens britanniques** de race Dogue Allemand, atteints ou non de MCD, a en effet suggéré un mode de transmission **autosomique dominant** : toutes les générations étaient en effet atteintes, ce qui permettait d'exclure le mode de transmission autosomique récessif, et un historique de transmission de la mutation d'un père mâle à sa descendance mâle permettait d'exclure le mode de transmission lié à l'X dans les deux lignées étudiées (Figure 36) (Stephenson *et al.*, 2012).

Figure 36 : Pedigrees de deux familles britanniques de Dogue Allemand dans lesquelles ségrègue une myocardiopathie dilatée (Stephenson *et al.*, 2012).

Un symbole gris signifie que le diagnostic de MCD est équivoque. Un symbole blanc signifie que l'animal est indemne de MCD. Un symbole barré signifie que l'animal est décédé, et une petite flèche signifie que le décès est d'origine cardiaque. Un symbole présentant un point noir en son milieu signifie que le statut de l'animal vis-à-vis de la MCD est inconnu.

Ces pedigrees ont permis de suggérer un mode de transmission autosomique dominant. Un symbole noir signifie que l'animal est atteint de myocardiopathie dilatée (MCD).



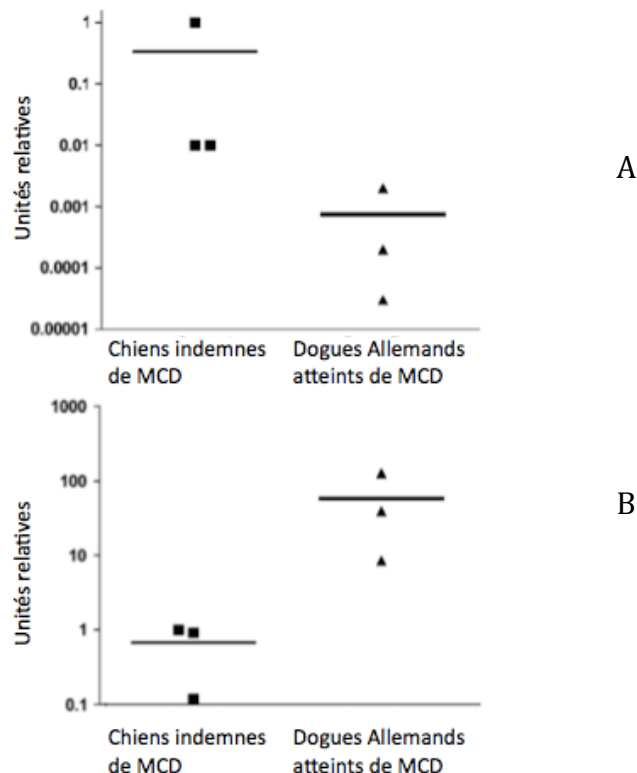
Aux États-Unis, la mutation responsable de la MCD dans les lignées américaines de Dogue Allemand n'a pas encore été mise en évidence. Des modifications de l'expression des ARN codant pour la calstabine 2 et la triadine (deux protéines régulatrices du récepteur à la ryanodine cardiaque RyR2) ont néanmoins été décrites dans des études d'expression des gènes (Figure 37).

Les conséquences de la diminution d'expression de la triadine n'ont pas encore été clairement définies, mais les études ont montré une augmentation de la fréquence des arythmies, ainsi qu'une altération des mécanismes de couplage excitation-contraction suite à la diminution d'expression de la triadine.

La surexpression de la calstabine 2 (codée par le gène *FKBP1B*) serait à l'origine d'une diminution du relargage de Ca^{2+} potentiellement arythmogène dans les cardiomyocytes, et aurait un effet protecteur sur le myocarde. Cette surexpression correspondrait probablement à un mécanisme compensatoire de l'augmentation d'activité du canal RyR2, elle-même secondaire à la diminution d'expression de la triadine. Cependant, des études supplémentaires portant sur les conséquences physiopathologie de ces anomalies sont encore nécessaires (Oyama *et al.*, 2009).

Figure 37 : Comparaison de l'expression des gènes codant la triadine (A) et la calstabine 2 (B), obtenue par réaction par polymérisation en chaîne après transcription inverse (RT-PCR) en temps réel chez trois Dogues Allemands souffrant d'un stade avancé de myocardiopathie dilatée et trois chiens d'autres races, non atteints de myocardiopathie dilatée (Oyama *et al.*, 2009).

MCD : Myocardiopathie dilatée. Une échelle logarithmique a été utilisée pour l'axe des ordonnées. La barre représente la valeur moyenne pour les trois chiens étudiés dans chaque cohorte.



L'origine physiopathologique de la MCD chez le Dogue Allemand correspond donc probablement à l'altération des mécanismes d'échanges cellulaires du Ca^{2+} .

2.2.4. La myocardiopathie dilatée chez le Lévrier Irlandais

Présentation de la race

Le Lévrier Irlandais (Figure 38) est un Lévrier de très grande taille (80 à 86 cm au garrot), descendant des Lévrier celtiques élevés en Irlande. Les Lévrier Irlandais furent utilisés pour protéger les troupeaux des loups jusqu'au 17^e siècle. Après un déclin de la race pendant deux siècles, cette race redevint à la mode en Irlande au 19^e siècle. Le Lévrier Irlandais est un animal très musclé et puissant, qui possède de très bonnes aptitudes à la chasse. Sa tête est très longue et horizontale. Sa robe peut varier de couleur (gris, bringé, rouge, noir, blanc), et son pelage est long et rêche (FCI, 2002).

Figure 38 : Chien de race Lévrier Irlandais (R.A.L.I.E., 2014).



Afin de conserver la race qui était en déclin, de nombreux « apports extérieurs » à cette dernière ont été effectués, caractérisés par des croisements de Lévrier Irlandais avec des Dogues Allemands, des Lévrier Ecossais, des Lévrier Barzoï et des Dogues du Tibet. La race a ainsi subi de nombreux apports génétiques, à la différence d'autres races canines comme le Doberman, fermées à tout croisement avec une autre race (Philipp *et al.*, 2007).

Prévalence et épidémiologie de la myocardiopathie dilatée chez le Lévrier Irlandais

Le Lévrier Irlandais est une race communément touchée par la MCD. Une étude réalisée sur 500 Lévrier Irlandais présentés au Small Animal Veterinary Hospital de Wissen (Allemagne) a mis en évidence des signes échocardiographiques de MCD chez 24 % des 500 animaux étudiés. La prévalence de la maladie dans la race est donc relativement importante, l'âge moyen d'apparition de la maladie étant de 4,5 ans (Vollmar, 2000).

Présentation clinique de la myocardiopathie dilatée chez le Lévrier Irlandais

Chez le Lévrier Irlandais atteint de MCD, l'examen ECG révèle fréquemment des arythmies, principalement une fibrillation atriale (chez 75 à 80 % des races géantes atteintes de MCD) (Vollmar, 2000). La fibrillation atriale précède souvent de plusieurs mois l'apparition d'un souffle cardiaque et de signes cliniques.

Les principales manifestations cliniques de la MCD chez le Lévrier Irlandais sont une IC congestive (épanchement pleural et péricardique, ascite, œdème pulmonaire) voire une mort subite (Meurs, 2010c).

Le diagnostic de choix est donc l'association des examens clinique, échocardiographique et électrocardiographique réguliers, afin de mettre en évidence une éventuelle fibrillation atriale, qui est le premier signe précédant l'apparition de souffle cardiaque, voire d'autres signes cliniques d'IC congestive (Brownlie et Cobb, 1999; Vollmar, 2000).

Données génétiques sur la myocardiopathie dilatée du Lévrier Irlandais

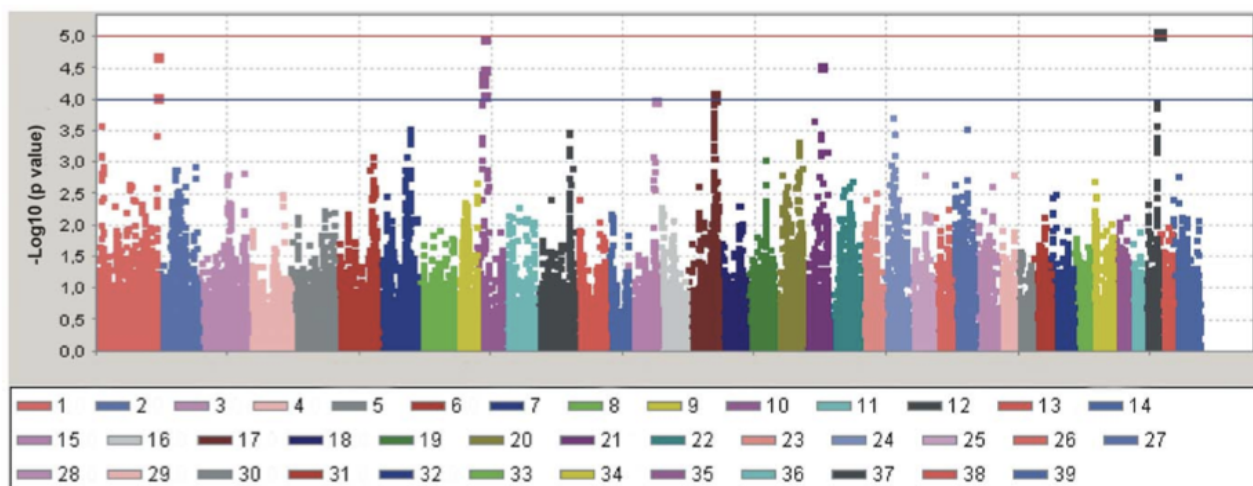
Les mâles sont souvent surreprésentés parmi les malades et développent en général la maladie plus tôt (Vollmar, 2000). Une modélisation effectuée en 2007 à partir de pedigrees couvrant quinze générations de chiens a permis de déterminer le mode de transmission de la maladie. Le mode de transmission de la MCD chez le Lévrier Irlandais ne serait pas monogénique simple. Il semble fort probable que le mode de transmission soit polygénique, et qu'il existe un gène à effet majeur, porté par un chromosome sexuel (lié à l'X), ainsi que des gènes à effet mineur (gènes modificateurs) (Distl *et al.*, 2007).

Des études de liaison menées avec des marqueur microsatellites situés sur le chromosome X et des études gène-candidat ont permis d'exclure les gènes codant la tafazzine, la protéine cap-titine, la protéine alfa-actine, la protéine 3 riche en cystéine et en glycine, la protéine desmine, le phospholambane, la protéine sarcoglycane-delta, et les tropomodulines (Philipp *et al.*, 2007; Philipp *et al.*, 2008a; Philipp *et al.*, 2008b).

Une étude de type GWAS réalisée en 2012 en Europe, sur 106 Lévrier Irlandais atteints de MCD et 84 Lévrier Irlandais indemnes, à l'aide de 83621 SNP répartis sur l'ensemble du génome, a permis de mettre en évidence une région candidate hautement associée à la MCD (locus majeur) sur le chromosome canin 37, et des régions faiblement associées (loci mineurs) sur les chromosomes 1, 10, 15, 17 et 21 (Figure 39). Ces résultats sont en faveur d'un mode de **transmission polygénique de la MCD** dans la race (sans locus majeur lié à l'X). Cependant, ces résultats n'expliquent pas tous les cas de MCD étudiés. L'origine polygénique multiple de la maladie dans la race s'explique probablement par les nombreux croisements effectués avec d'autres races de chiens lors de la reconstruction de la race (Philipp *et al.*, 2012).

Figure 39 : Manhattan Plot permettant d'identifier les loci ségrégant avec la myocardiopathie dilatée du Lévrier Irlandais (Philipp *et al.*, 2012).

Chaque point représente un marqueur de type Single Nucleotide Polymorphism (SNP). Les chromosomes canins sont représentés par différentes couleurs. La ligne rouge indique la valeur seuil de probabilité (*p*-value) au dessus de laquelle il est probable que le locus soit associé à la MCD.



2.2.5. La myocardiopathie dilatée chez le chien d'Eau Portugais

Présentation de la race

Le chien d'Eau Portugais (ou Cão de Agua Português), est un chien de pêche et de compagnie, originaire de la province de l'Algarve au Portugal (Figure 40). Cette race est représentée le long des côtes portugaises depuis de nombreuses années. Ses proportions sont moyennes (50 cm au garrot en moyenne), et sa morphologie est de type braccoïde. Son poil est très dense et résistant, et il possède une robe noire, marron ou blanche unie. Il existe deux types de poils en fonction des chiens : un poil long et ondulé, ou un poil plus court et dense (FCI, 2010).

Figure 40 : chien d'Eau Portugais (Club du Barbet, Lagotto et autres chiens d'eau, 2011).



Présentation de la myocardiopathie dilatée chez le chien d'Eau Portugais

Le chien d'Eau Portugais est touché par une forme juvénile de MCD. Les chiots atteints par cette maladie naissent en général de parents non atteints et meurent entre l'âge de 2 et 32 semaines. Ils présentent des syncopes et souvent une mort subite (Dambach *et al.*, 1999). Les chiens souffrant de MCD peuvent parfois montrer un abattement marqué et une dysorexie jusqu'à cinq jours avant le déclenchement de l'IC congestive (Werner *et al.*, 2008).

Il est possible de détecter cette forme juvénile de MCD par échocardiographie (dilatation du ventricule gauche et diminution marquée de l'inotropisme) entre une et quatre semaines avant l'apparition des signes cliniques (Werner *et al.*, 2008).

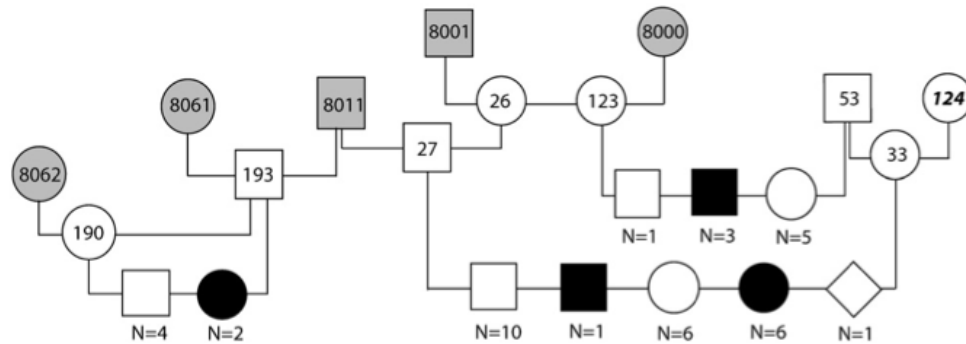
Une étude réalisée en 2002 (Sleeper *et al.*, 2002) a montré que sur un total de 124 chiots de cette race évalués cliniquement et ayant subi un examen échocardiographique, 10 d'entre eux étaient déjà atteints par une MCD.

Données génétiques sur la myocardiopathie dilatée du chien d'Eau Portugais

L'hypothèse actuelle est celle d'une transmission autosomique récessive à pénétrance complète (Figure 41).

Figure 41 : Pedigree d'une famille de chiens d'Eau Portugais de race pure (excepté pour le chien 124) dans laquelle ségrégue une myocardiopathie dilatée juvénile (Werner *et al.*, 2008).

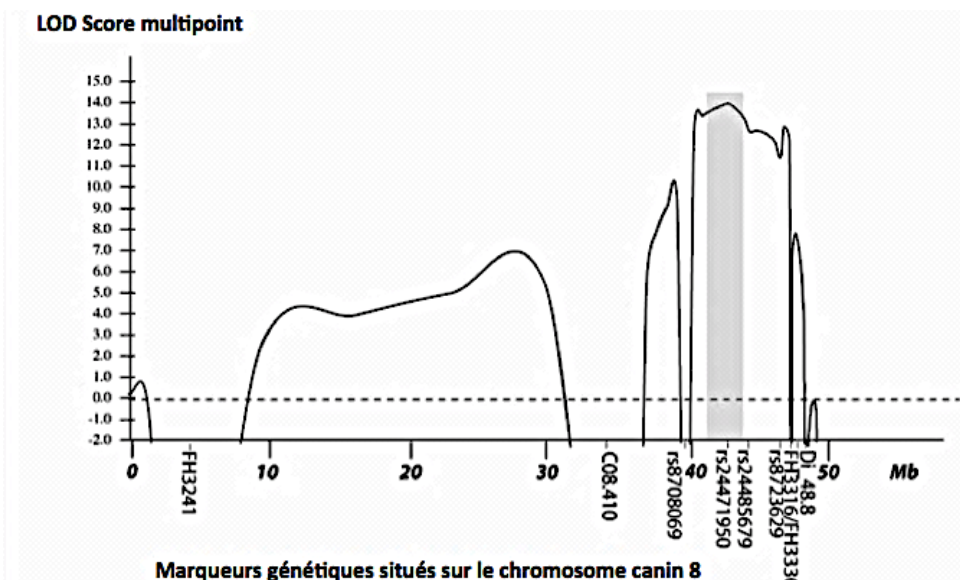
Symbole gris : animal indemne mais absence de données ADN ; symbole noir : animal atteint ; symbole blanc : animal indemne ; Symbole en diamant : chiot mort-né ; N : nombre de chiens d'un sexe et phénotype donné ; Cercle : femelle ; carré : mâle. Ce pedigree a permis de conclure à un mode de transmission autosomique récessif : dans de nombreux cas, deux animaux sains donnent en effet une descendance atteinte par la maladie.



Une analyse de liaison a été effectuée sur 119 chiens d'Eau Portugais provenant de 16 lignées différentes, incluant 40 chiens atteints de MCD. L'analyse initiale (basée sur l'utilisation de marqueurs SNP) et la cartographie fine de la zone d'intérêt en utilisant des marqueurs SNP supplémentaires, ont permis de montrer que la MCD juvénile était liée à un locus sur le chromosome 8 (Figure 42), situé dans la zone entre 40,5 Mb et 44,4 Mb (Werner *et al.*, 2008).

Figure 42 : Résultat de l'analyse de liaison génotype/phénotype pour les différents marqueurs de type Single Nucleotide Polymorphism (SNP) situés sur le chromosome 8 (CFA 8) chez le chien d'Eau Portugais (Werner *et al.*, 2008).

Le LOD Score quantifie le degré de liaison génétique entre un allèle donné pour un marqueur SNP, et la myocardiopathie dilatée (MCD). Ce LOD Score a été calculé pour chacun des marqueurs SNP connus sur le chromosome canin 8 (chiens d'Eau Portugais). La région grisée correspond à la portion du chromosome 8 pour laquelle le LOD Score est le plus élevé : les marqueurs SNP situés dans cette région possèdent donc des allèles fortement associés à la MCD juvénile chez le chien d'Eau Portugais. Le marqueur concerné est ici le marqueur rs24471950. La probabilité que le gène portant la mutation responsable de la MCD juvénile se situe à proximité du marqueur rs24471950 est élevée.



Un marqueur fortement lié à la MCD situé à 42,4 Mb sur le chromosome 8 a été identifié (SNP rs24471950) (Figure 42). Cependant, malgré le séquençage de trois gènes candidats actuellement connus dans cette région et susceptibles d'être à l'origine de la maladie (par analogie avec le génome humain), le gène causal n'a pas été mis en évidence (Werner *et al.*, 2008). Il est donc nécessaire d'étudier l'association avec la maladie d'autres gènes situés sur ce locus.

2.2.6. La myocardiopathie dilatée chez le Terre-Neuve

Présentation de la race

Le chien de Terre-Neuve (Figure 43) est un chien de traîneau et un chien d'eau, originaire de l'île de Terre-Neuve (Canada). Il descend de chiens indigènes et du grand chien d'ours noir, introduit par les Vikings après l'an 1100. Lors de la redécouverte de l'île de Terre-Neuve en 1610, les chiens qui y étaient présents possédaient déjà la majorité des caractéristiques morphologiques du chien Terre-Neuve actuel. Ce dernier est capable de résister à des climats extrêmes, et de plonger dans des eaux très froides. Il était utilisé pour tirer des charges très lourdes sur terre ou comme chien sauveteur en mer. Le Terre-Neuve est un chien de taille importante (66 à 72 cm au garrot), massif et très musclé, pesant jusqu'à 70 kg pour les mâles. Son museau est modérément court et ses oreilles sont tombantes et relativement petites. Sa robe est noire, blanche et noire, ou marron, et il a un poil long imperméable, avec un sous-poil très dense (FCI, 1996).

Figure 43 : Chien de race Terre-Neuve (Club Français du Chien Terre Neuve et du Landseer, 2013).



Prévalence et épidémiologie de la myocardiopathie dilatée chez le Terre-Neuve

La prévalence de la MCD chez le Terre-Neuve est relativement élevée dans certaines lignées. Une étude réalisée en 2008 a porté sur un total de 74 chiens de race Terre-Neuve provenant de quatre lignées distinctes. Sur les 74 chiens, 38 étaient atteints de la maladie (Wiersma *et al.*, 2008).

La MCD apparaît généralement à l'âge adulte chez le Terre-Neuve (Meurs, 2010c).

Présentation clinique de la myocardiopathie dilatée chez le Terre-Neuve

L'apparition des signes cliniques de MCD chez le Terre-Neuve est souvent brutale et inclut des signes d'IC congestive globale (gauche et droite) ainsi que des signes d'IC circulatoire. Une polydipsie est souvent rapportée dans cette race (Tidholm et Jonsson, 1996). Une étude réalisée en 1996 sur un total de 38 chiens de race Terre-Neuve a montré qu'un souffle cardiaque n'était audible que chez un faible nombre d'animaux atteints de MCD (4 chiens sur 38). Dans cette même étude, un ECG réalisé sur 31 chiens a révélé des arythmies dans 84 % des cas, la plus fréquente étant la fibrillation atriale (14 chiens sur 31) (Tidholm et Jonsson, 1996 ; Meurs, 2010c).

Les critères diagnostiques de la maladie sont à la fois électrocardiographiques (fibrillation atriale, avec parfois quelques ESV isolées) et échocardiographiques (dilatation ventriculaire et dysfonction systolique) (Wiersma *et al.*, 2008).

Données génétiques sur la myocardiopathie dilatée du Terre-Neuve

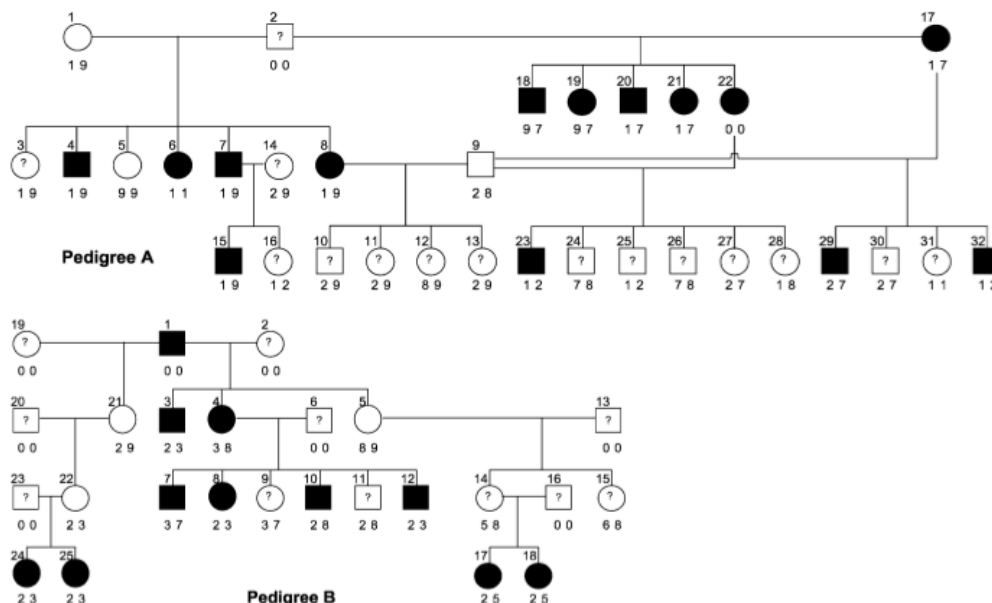
La MCD chez le chien de race Terre-Neuve est une maladie sans prédisposition de sexe (Dukes-McEwan et Jackson, 2002).

L'hypothèse la plus probable est celle d'une transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète (Figure 44) (Dukes-McEwan, 1999).

Figure 44 : Pedigree de deux familles de chiens de race Terre-Neuve dans lesquelles ségrège une myocardiopathie dilatée (Wiersma *et al.*, 2008).

Symbole noir : animal atteint ; symbole blanc vidé : animal indemne ; Symbole blanc rempli d'un point d'interrogation : animal pour lequel les données phénotypiques sont inconnues ; Cercle : femelle ; carré : mâle.

Ce pedigree a permis de conclure à un mode de transmission autosomique dominant avec une pénétrance incomplète. Toutes les lignées sont en effet atteintes dans le pedigree A, ce qui exclut un mode de transmission autosomique récessif. La présence de mâles transmettant la maladie à leur descendance mâle permet d'exclure un mode de transmission lié à l'X. La présence de certaines générations dans le pedigree B au statut sain vis-à-vis de la MCD malgré une descendance atteinte, permet de supposer une pénétrance incomplète.



Des études de type gène-candidat ont permis de conclure qu'une quinzaine de gènes (Tableau 10) connus comme possédant un allèle à l'origine de MCD chez l'homme n'étaient pas à l'origine de la MCD chez le chien de race Terre-Neuve. Il serait donc intéressant d'étudier plus en détail l'origine génétique de cette maladie dans la race afin de mettre en évidence le locus causal, qui pourrait être un nouveau locus candidat pour la MCD chez l'homme (Wiersma *et al.*, 2008).

Tableau 10 : Gènes pour lesquels l'étude de Wiersma *et al.* (2008) a montré l'absence d'association avec la myocardiopathie dilatée chez le chien de race Terre-Neuve.

Abréviation	Nom du gène
<i>ACTC</i>	<i>α-cardiac actin</i>
<i>CAVI</i>	<i>Cavéoline</i>
<i>CSRP3</i>	<i>Protéine 3 riche en cystéine</i>
<i>LDB3</i>	<i>Facteur 3 de liaison au domaine LIM</i>
<i>DES</i>	<i>Desmine</i>
<i>LMNA</i>	<i>Laminine A et C</i>
<i>MYH7</i>	<i>Chaîne lourde de la myosine</i>
<i>SGCD</i>	<i>Sarcoglycane delta</i>
<i>TNNI3</i>	<i>Troponine I</i>
<i>TNNT2</i>	<i>Troponine T</i>
<i>TPMI</i>	<i>α-tropomyosine</i>
<i>TTN</i>	<i>Titine</i>
<i>VCL</i>	<i>Vinculine</i>

3. La myocardiopathie hypertrophique

3.1. Présentation générale de la myocardiopathie hypertrophique

La MCH, cardiopathie la plus fréquente chez le chat, se caractérise par une hypertrophie ventriculaire gauche non secondaire à une atteinte cardiaque primitive (sténose aortique, *etc.*). Elle peut être « primaire », ou secondaire à diverses affections (hypertension artérielle systémique, hyperthyroïdie, acromégalie). Seule la MCH dite « primaire » fera l'objet du développement suivant.

Les chats de race les plus fréquemment atteints de MCH, et qui ont par conséquent été les premiers étudiés, sont le Ragdoll et le Maine Coon. Cependant, d'autres races comme le Sphynx, le Persan, l'American Shorthair, le British Shorthair, ou encore le chat Européen sont fortement touchés par cette cardiopathie, et sont actuellement de plus en plus l'objet de programmes de recherche visant à élucider l'origine génétique de la maladie.

Présentation clinique

La MCH est une maladie évolutive au cours de laquelle l'épaississement du myocarde ventriculaire gauche peut conduire à une diminution importante du volume ventriculaire gauche, compliquée à terme d'IC congestive, d'accidents thrombo-emboliques, voire de mort subite sans autre symptôme (Baty, 2004).

Le pronostic de survie est variable en fonction de la race et des signes cliniques et échocardiographiques de la maladie.

Les chats de race Maine Coon et Ragdoll atteints de MCH ont ainsi en général une durée de survie significativement plus courte que les chats d'autres races (Payne *et al.*, 2010 ; Trehieu-Sechi *et al.*, 2012).

Un animal pour lequel une MCH est diagnostiquée au stade asymptomatique aura par ailleurs une durée de survie plus longue que ceux diagnostiqués au stade symptomatique : l'étude de Payne et collaborateurs effectuée sur un total de 127 chats atteints de MCH a montré que la médiane de survie des chats au stade asymptomatique était supérieure à 3617 jours, tandis qu'elle n'était que de 194 jours pour les chats insuffisants cardiaques (Payne *et al.*, 2010). Enfin, une dilatation atriale gauche, une hypertrophie marquée du ventricule gauche (supérieure à 9 mm), et une diminution de l'inotropisme ventriculaire gauche sont des facteurs affectant négativement le pronostic (médiane de survie de plus de 3617 jours pour les chats sans dilatation atriale gauche *versus* 229 jours pour ceux présentant une dilatation atriale gauche)(Payne *et al.*, 2013).

Diagnostic

- Examen clinique

La phase asymptomatique de la MCH est relativement longue. Un souffle cardiaque n'est pas toujours audible à l'auscultation et n'est pas un bon marqueur diagnostique de cette maladie. Si un souffle est détecté, il sera typiquement systolique apexien gauche, fréquence-dépendant (MacDonald, 2010). Un bruit de galop et des arythmies sont parfois entendus à l'auscultation.

Lorsque la maladie conduit à une IC congestive, cette dernière peut être gauche ou globale. Elle est en général d'apparition brutale, et peut être déclenchée par certains événements comme une fluidothérapie, une anesthésie, ou une corticothérapie récente (Abbott, 2010).

La MCH peut rester asymptomatique toute la vie de l'animal et avoir pour unique manifestation une mort subite. Il est par conséquent très important d'utiliser des examens complémentaires pour dépister la maladie chez les animaux appartenant à des lignées à risque (Abbott, 2010 ; MacDonald, 2010).

- Électrocardiogramme

L'ECG n'est pas un examen sensible pour le diagnostic de MCH. Il peut révéler la présence d'éventuelles arythmies, principalement des ESV, voire des épisodes de tachycardie ventriculaire, des extrasystoles atriales, une tachycardie atriale ou une fibrillation atriale.

- Échocardiographie

Le remodelage du ventricule gauche ainsi que la diminution du diamètre ventriculaire gauche sont identifiables à l'examen échocardiographique (Figure 45).

On considère qu'il y a hypertrophie myocardique gauche lorsque l'épaisseur télédiastolique de la paroi libre du ventricule gauche et/ou du septum interventriculaire, en mode TM ou 2D, est supérieure à six millimètres (Fox *et al.*, 1995 ; Mary *et al.*, 2010). Cette « valeur seuil » a été revue à la baisse dans certaines races, notamment pour le Sphynx chez lequel une épaisseur maximale de 5,5 mm est recommandée (Chetboul *et al.*, 2012).

Le mode TM permet d'objectiver l'inotropisme par le calcul de la fraction de raccourcissement du ventricule gauche. La fonction de relaxation diastolique du myocarde est altérée (MacDonald, 2010).

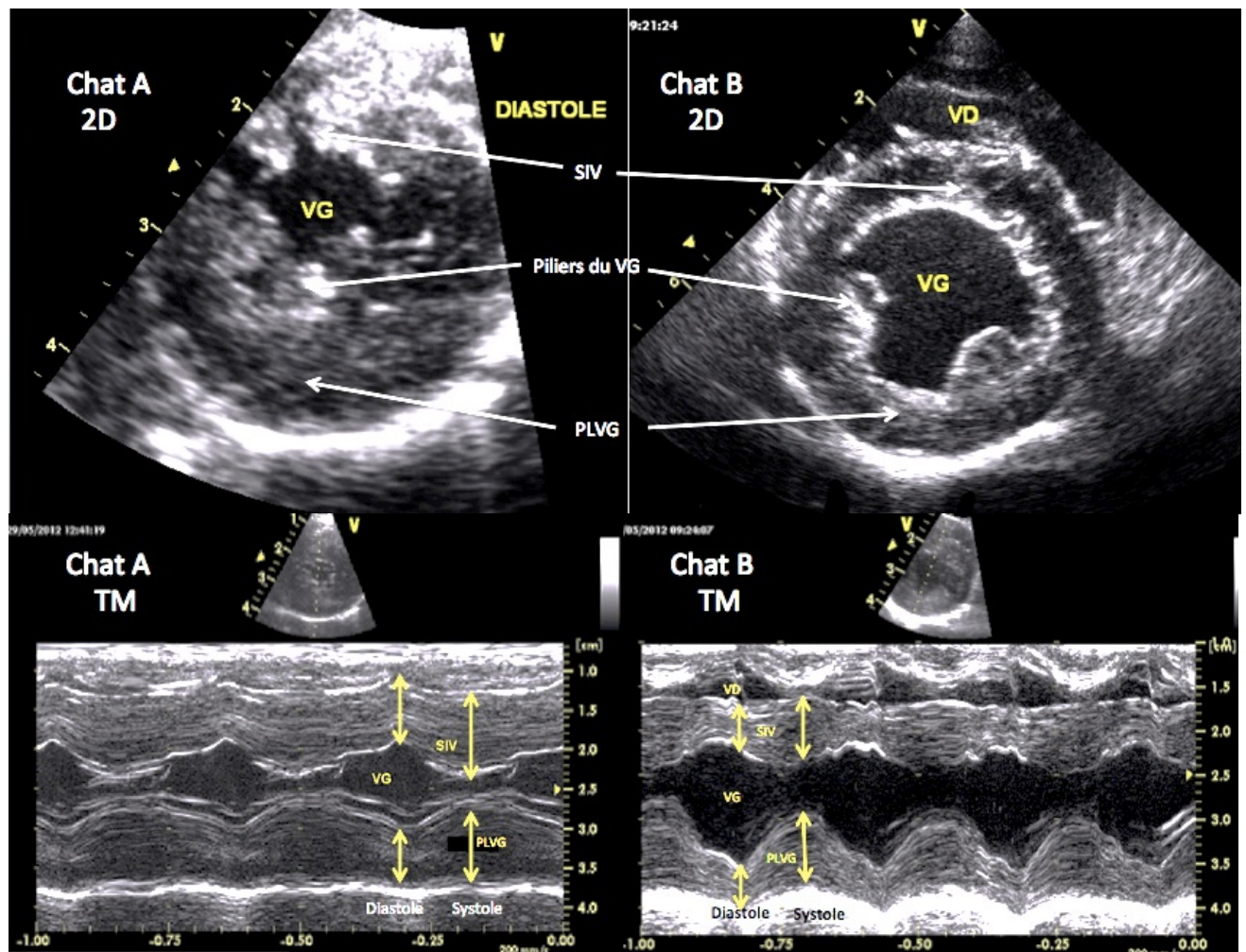
Aux stades très avancés de la maladie la paroi libre du ventricule gauche et le septum interventriculaire peuvent être amincis. Un thrombus (rarement plusieurs) est parfois observé dans les cavités cardiaques gauches, plus particulièrement dans l'atrium gauche lorsqu'il est dilaté (Cesta *et al.*, 2005 ; MacDonald, 2010).

Figure 45 : Coupes bidimensionnelles transventriculaire en télédiastole (2D) et coupes temps-mouvement transventriculaires (TM), obtenues par voie parasternale droite, chez un chat atteint de myocardiopathie hypertrophique (A) et chez un chat sain (B) (Unité de Cardiologie d'Alfort).

2D : mode bidimensionnel ; SIV : septum interventriculaire ; SIVd : épaisseur du septum interventriculaire en diastole ; PLVG : paroi libre du ventricule gauche ; PLVGd : épaisseur de la paroi libre du ventricule gauche en diastole ; TM : mode temps-mouvement ; VD : ventricule droit ; VG : ventricule gauche.

SIVd = 7,3 mm (chat A) versus 4,6 mm (chat B) ; PLVGd = 7,7 mm (chat A) versus 4,2 mm (chat B).

Noter l'hypertrophie concentrique du ventricule gauche chez le chat atteint de MCH, visible en mode bidimensionnel et temps-mouvement.



Dans certains cas de MCH, un mouvement antérieur systolique de la valve mitrale (SAM : *Systolic Anterior Motion*) peut être observé au mode 2D et TM (coupe 5 cavités par voie parasternale droite). Ce SAM correspond à un mouvement spécifique du feuillet antérieur de la valve mitrale qui vient toucher le septum interventriculaire, et est à l'origine d'une obstruction dynamique du flux sanguin dans l'aorte au moment de la systole. Ce mouvement favorise l'apparition d'une insuffisance mitrale à l'origine d'un souffle systolique apexien gauche (Abbott, 2010 ; MacDonald, 2010).

Le Doppler tissulaire myocardique permet, dans certains cas, une détection précoce de la MCH, avant même l'apparition d'une hypertrophie ou d'une dysfonction diastolique à l'échocardiographie conventionnelle (Chetboul, 2010). Lors de MCH, les premières altérations visualisées au Doppler tissulaire myocardique sont une dysfonction diastolique longitudinale de la paroi libre du ventricule gauche, à laquelle peut s'ajouter une dysfonction radiale. Une inversion des ondes E/A diastoliques est ainsi constatée, principalement en raison de la diminution des vitesses protodiastoliques. Enfin, une dysfonction systolique peut également être observée (Carlos Sampedrano *et al.*, 2006 ; Chetboul, 2010).

- Analyse des biomarqueurs

La mesure de la concentration sérique en cTnI permet de différencier les chats atteints des chats atteints de formes modérées à graves de MCH. De plus, parmi les chats atteints de MCH, la concentration sérique en cTnI est significativement plus élevée chez les chats insuffisants cardiaques, que chez les chats asymptomatiques (Herndon *et al.*, 2002).

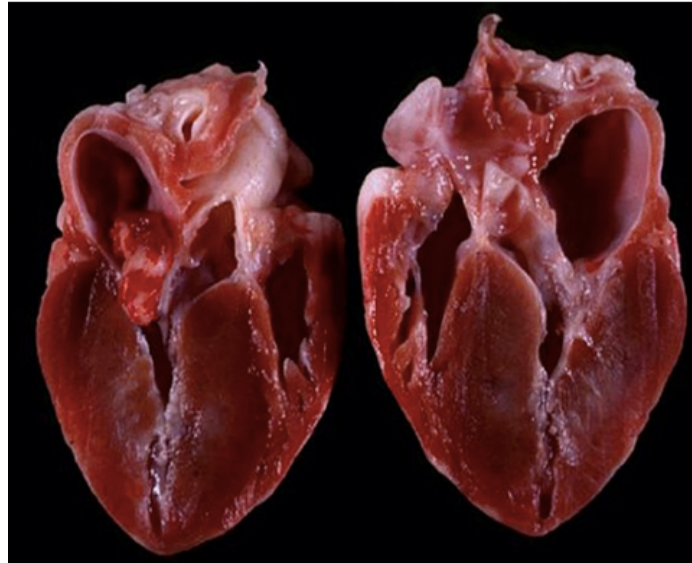
Des études récentes ont évalué la pertinence de l'utilité du NT-proBNP dans le diagnostic de la MCH asymptomatique : l'équipe de Fox a ainsi montré que chez des chats sans symptôme fonctionnel de MCH (227 chats), une augmentation de la concentration sérique en NT-proBNP est associée significativement à la présence de signes échocardiographiques de MCH. S'il ne doit néanmoins pas se substituer totalement aux dépistages échocardiographiques, le dosage des NT-proBNP est un outil intéressant dans le diagnostic de MCH occulte (Fox *et al.*, 2011).

- Examen histologique

L'examen nécropsique et histologique du cœur permet d'aboutir au diagnostic de certitude de MCH féline.

A l'examen macroscopique du cœur, une diminution de taille de la cavité ventriculaire gauche, voire une obstruction complète de cette cavité sont visibles (Figure 46). D'éventuels thrombi peuvent être observés dans les cavités gauches, plus particulièrement dans l'atrium gauche (Cesta *et al.*, 2005 ; MacDonald, 2010). En phase terminale de la maladie, les cavités cardiaques peuvent être dilatées et les parois ventriculaires amincies.

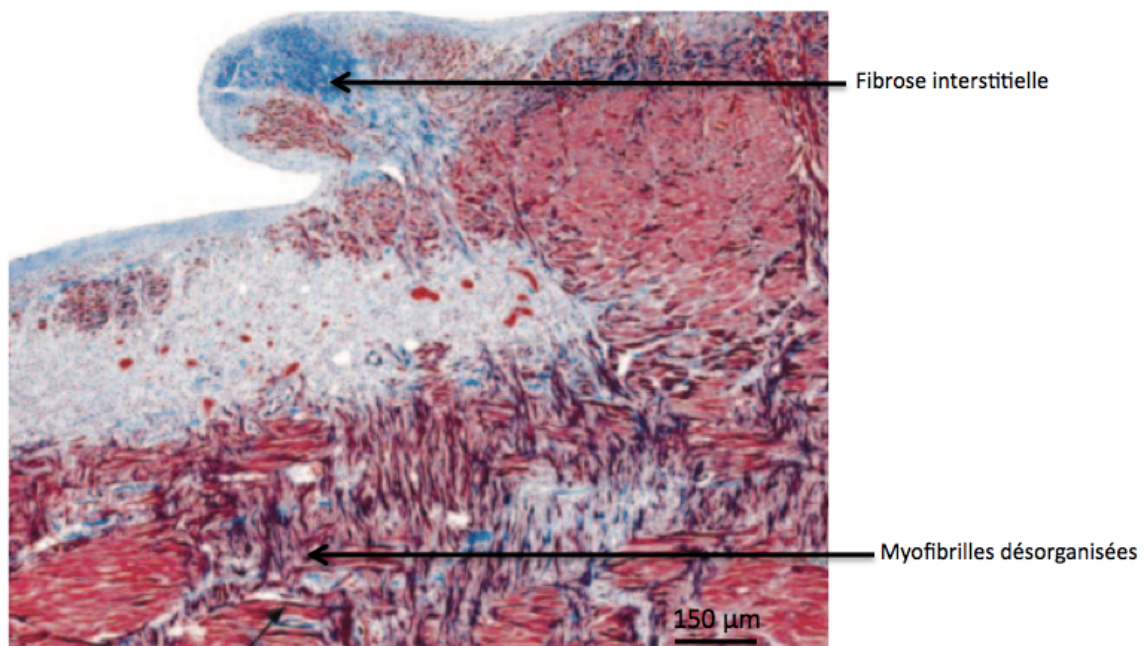
Figure 46 : Observation macroscopique d'une coupe grand axe d'un cœur de chat atteint de myocardiopathie hypertrophique (MacDonald, 2010)



L'examen histologique (Figure 47) permet de mettre en évidence des myocytes hypertrophiés, mal alignés et désorganisés, possédant des noyaux et des appareils de Golgi de taille augmentée. Certaines fibres musculaires s'entrecroisent. Des signes de dégénérescence des myocytes sont également observables : une distension des réticulums sarcoplasmiques, une lyse focale des myofibrilles, une désorganisation des bandes Z, et l'accumulation de nombreuses granules de lipofuscine. Au niveau des sites où les myocytes ont été nécrosés, se met en place une fibrose interstitielle avec accumulation de fibres de collagène et de fibroblastes (Van Vleet *et al.*, 1980 ; Cesta *et al.*, 2005).

Figure 47 : Observation histologique de la paroi libre du ventricule gauche d'un chat atteint de myocardiopathie hypertrophique (Cesta *et al.*, 2005).

La fibrose interstitielle (en bleu, en haut de l'image) ainsi que la désorganisation des myofibrilles sont mises en évidence par la coloration au trichrome de Gomori.



3.2. Spécificités et déterminisme génétique de la myocardiopathie hypertrophique chez différentes races

3.2.1. La myocardiopathie hypertrophique chez le Maine Coon

Quelques mots sur le Maine Coon

Le Maine Coon (Figure 48) est un chat à poils mi-longs originaire de l'Etat du Maine aux États-Unis. Il est caractérisé par ses oreilles avec plumets et sa grande taille, les mâles pesant souvent près de 8 kg. L'origine de ce chat est actuellement discutée, l'une des hypothèses principales considérant que le Maine Coon est le descendant de chats arrivés sur le continent américain avec les Vikings. Une partie des félins échappés à terre et livrés à eux-mêmes se sont adaptés au climat hivernal du Maine. Ils ont développé une fourrure quasi imperméable, une musculature puissante et une solide mâchoire de chasseur. Le Maine Coon a été reconnu en 1976 par la *Cat Fanciers' Association* (CFA), le plus grand club félin américain et son succès ne s'est jamais démenti depuis, en faisant une race très à la mode depuis les années 1980 (Livre Officiel des Origines Félines, 2014).

Figure 48 : Chat de race Maine Coon (Fiche race Royal Canin : Le Maine Coon).



Prévalence et épidémiologie

La MCH chez le Maine Coon est une cardiopathie dont la prévalence est relativement importante. Sur une population de 42 Maine Coons pure race, présentés pour dépistage échographique, des signes de MCH ont été mis en évidence chez 9,5 à 26,2 % des animaux en fonction des critères diagnostiques considérés (Gundler *et al.*, 2008). Une étude réalisée sur 164 chats de race Maine Coon a montré une prévalence de la MCH de 7 % (signes échocardiographiques de la maladie chez 12 chats) (Mary *et al.*, 2010).

Les premiers signes cliniques sont visibles généralement entre un an et demi et trois ans d'âge chez le Maine Coon, mais peuvent ne pas se déclarer avant l'âge de sept ans (Mary *et al.*, 2010).

Les caractéristiques cliniques, échocardiographiques, électrocardiographiques et histologiques sont similaires chez le chat de race Maine Coon à ceux décrits pour les autres races de l'espèce féline (MacDonald, 2010).

Données génétiques sur la myocardiopathie hypertrophique chez le Maine Coon

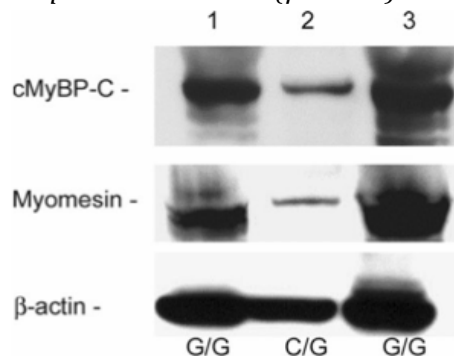
La MCH est une maladie génétique prédominante chez le Maine Coon (Kittleson *et al.*, 1999; Meurs *et al.*, 2007b).

Grâce à une colonie expérimentale, le mode de transmission de MCH du Maine Coon a été initialement défini comme étant de type autosomique dominant à pénétrance complète et à expressivité variable (Kittleson *et al.*, 1999). Les études conduites par la suite sur de larges cohortes de chats de diverses origines ont montré que la pénétrance de la maladie était incomplète et l'expressivité effectivement variable (voir ci-après).

Une des causes moléculaires de la MCH a été mise en évidence en 2005 par une approche gène candidat dans une étude portant sur une colonie de 23 chats de race Maine Coon dans laquelle ségrégue la MCH (16 chats atteints de MCH et sept chats indemnes) et 100 chats non atteints appartenant à d'autres races (Meurs *et al.*, 2005). Le choix du gène candidat s'est orienté vers le gène *MYBPC3* (*Cardiac Myosin Binding Protein C 3*) car une mutation de ce gène était déjà connue pour être responsable de la maladie chez l'homme. De plus, des électrophorèses et Western blot (Figure 49) ont permis de mettre en évidence une réduction de l'expression de la protéine MYBPC3 chez des chats atteints de MCH, par rapport à des chats sains.

Figure 49 : Résultats (pour les protéines MYBPC3, myoméline et β -actine) du Western blot réalisé à partir de prélèvements de la paroi libre du ventricule gauche chez des chats sains (1 et 3) et un chat atteint de myocardiopathie hypertrophique (2) (Meurs *et al.*, 2005).

Noter l'intensité réduite du signal pour le chat 2 pour MYBPC3 (*cMyBP-C*) et la myoméline comparée à celles des chats 1 et 3, alors que la protéine contrôle (β -actine) est identique pour les trois chats.



Le séquençage du gène *MYBPC3* a permis de mettre en évidence une mutation au sein de ce gène codant la protéine C sarcomérique de liaison à la myosine. Cette mutation correspond au changement d'une paire de base (remplacement d'une guanine par une cytosine dans l'exon 3 en position 93 (G93C) (Figures 50 et 51), ayant pour conséquence une modification de la structure de la protéine C de liaison à la myosine (remplacement d'une alanine par une proline en position 31 dans la protéine). Cette mutation est appelée MYBPC3-A31P (Figure 52). Cette modification altère la capacité de liaison aux autres protéines contractiles du sarcomère (Meurs, 2010c). La présence de l'acide aminé proline à la place de l'acide aminé alanine entraîne une altération des interactions entre le domaine C0-C1 de la protéine (où se situait l'alanine substituée) et l'actine du sarcomère, ceci altérant ainsi la contraction à l'échelle du sarcomère.

Figure 50 : Mise en évidence de la substitution d'une paire de base touchant le codon 31 du gène *MYBPC3* chez le Maine Coon (Meurs *et al.*, 2005).

À gauche, une guanine (G) chez le chat sain (« unaffected »), à droite, une cytosine (C) chez le chat atteint (« affected »), dans l'encadré.

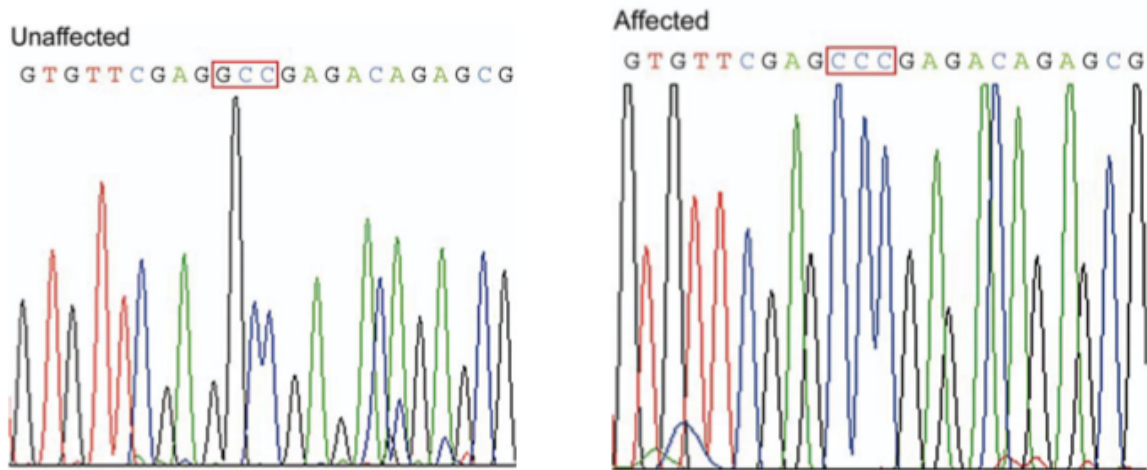


Figure 51 : Modélisation informatique de la structure secondaire de la protéine MYBPC3 chez des chats possédant ou non la mutation A31P (Meurs *et al.*, 2005).

Pour les chats possédant la mutation, la structure en hélice α est réduite en position des acides aminés 10 à 20 et on observe une structure majoritairement de type « pelote aléatoire » (structure non périodique où les acides aminés sont orientés de manière aléatoire). La mutation est par conséquent à l'origine d'une désorganisation des acides aminés situés dans la région mutée.

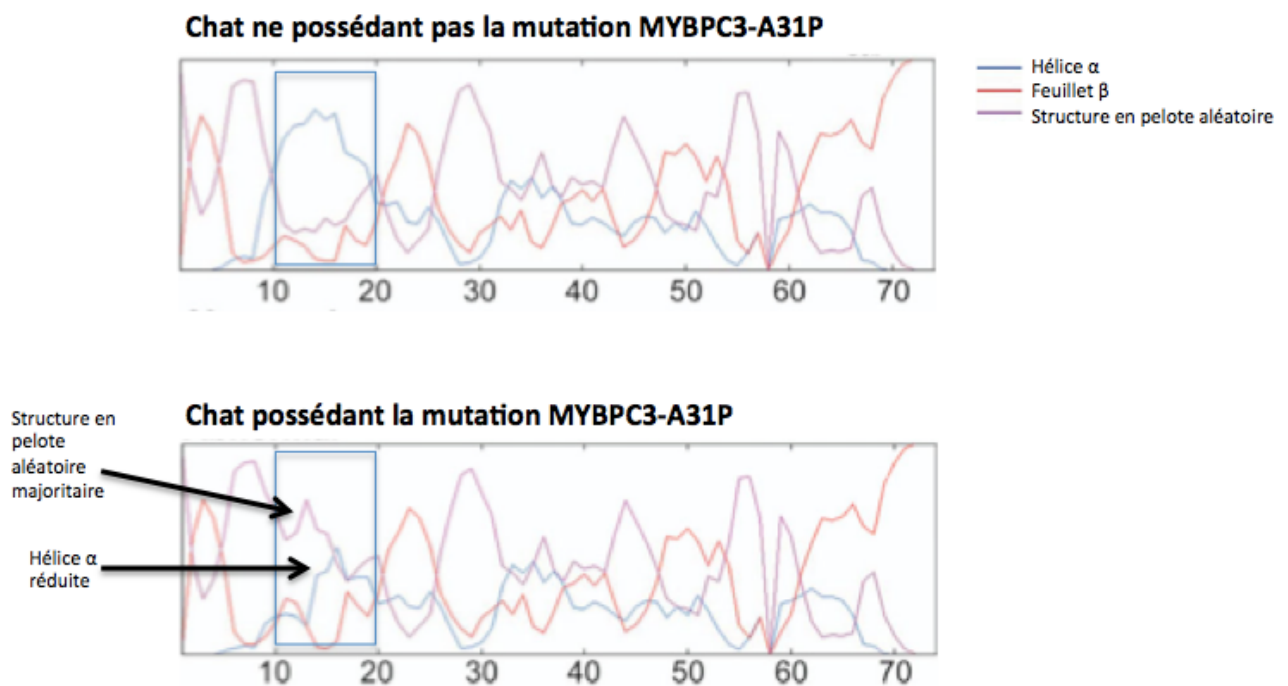
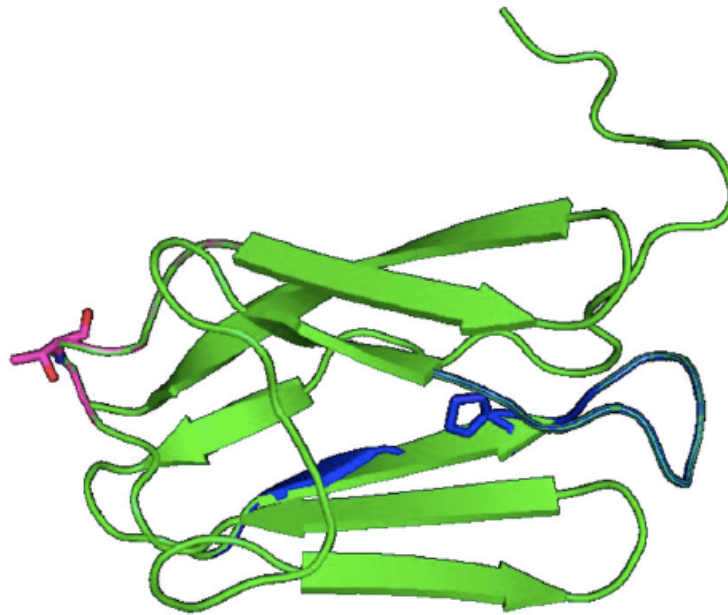


Figure 52 : Modélisation informatique de la structure secondaire de la protéine MYBPC3 non mutée (en vert), et des modifications de structure apportées par la mutation A31P et par un polymorphisme appelé A74T (Longeri *et al.*, 2013).

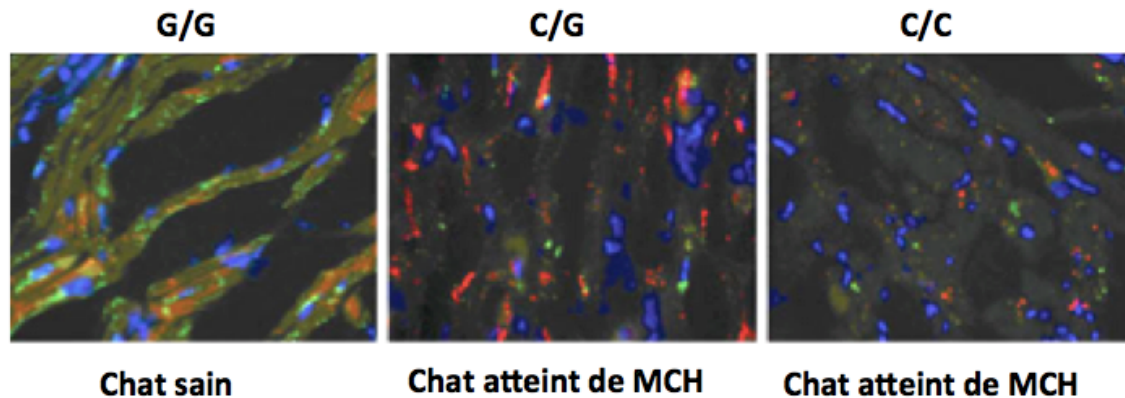
La mutation A31P est à l'origine de l'interruption de la structure en feuillet β centrale de la protéine MYBPC3 (bleu). La mutation A74T n'engendre pas de modification majeure de la structure protéique, en raison de la localisation périphérique des acides aminés modifiés sur la protéine (rose). Cette mutation peut néanmoins perturber les interactions entre la protéine MYBPC3 et d'autres protéines, en raison de la localisation périphérique des acides aminés modifiés sur la protéine MYBPC3.



Des études d'immunofluorescence *in vivo* ont également confirmé la diminution marquée de l'expression de la protéine MYBPC3 dans des sections de la paroi libre du ventricule gauche, chez des chats atteints de MCH, par comparaison à des chats indemnes (Figure 53).

Figure 53 : Analyse par immunofluorescence de la présence de la protéine sarcomérique MYBPC3 dans la paroi libre ventriculaire gauche chez un chat sain homozygote sauvage (G/G) et des chats atteints de mycardiopathie hypertrophique (hétérozygote muté C/G et homozygote muté C/C) (Meurs *et al.*, 2005).

La protéine MYBPC3 apparaît en vert, les noyaux des cellules apparaissent en bleu et l'actine en rouge. Cette étude permet de mettre en évidence une réduction significative de la quantité de protéine MYBPC3 dans la paroi ventriculaire gauche chez les chats atteints de mycardiopathie hypertrophique.



La mutation A31P a été mise en évidence aux États-Unis, mais des études ont pu démontrer l'association significative de cette même mutation chez les chats de race Maine Coon de lignées européennes atteints de MCH (Mary *et al.*, 2010). Une étude portant sur 3238 chats de race Maine Coon et 72 chats de 16 autres races a permis d'identifier la présence de la mutation A31P chez 33 % des chats de race Maine Coon, et a confirmé l'absence de cette mutation chez les chats appartenant à d'autres races (Fries *et al.*, 2008). L'étude française publiée en 2010, portant sur des Maine Coons européens, a mis en évidence une fréquence de la mutation de 42 % dans les lignées testées (Mary *et al.*, 2010).

Cependant, les chats porteurs hétérozygotes de la mutation A31P ne déclarent pas tous la maladie, et différents stades de gravité de la maladie sont observables. Les chats homozygotes pour la mutation sont plus susceptibles de développer la maladie, et sont en général atteints par une forme plus grave de celle-ci (Carlos Sampedrano *et al.*, 2009).

Une étude réalisée en 2011 visant à déterminer l'association entre la mutation A31P et la MCH chez des jeunes chats (sur un échantillon de 322 chats âgés de un à quatre ans) a démontré une association significative entre la maladie et le statut homozygote pour la mutation A31P. Cependant, cette association n'était pas significative chez les chats de moins de quatre ans et hétérozygotes pour la mutation, ni pour les chats âgés de quatre à six ans, probablement en raison de l'expressivité tardive et de la pénétrance incomplète de la MCH (Godiksen *et al.*, 2011). Ainsi, le mode de transmission de la MCH chez le Maine Coon n'est pas autosomique dominant à pénétrance complète comme initialement publié (Kittleson *et al.*, 1999).

Une étude réalisée sur 38 chats de race Maine Coon, hétérozygotes pour la mutation A31P n'a mis en évidence une hypertrophie du myocarde (à l'échocardiographie conventionnelle) que sur 4 de ces chats (Carlos Sampedrano *et al.*, 2009).

Lorsque des gènes codant des protéines de structure sont mutés, il suffit souvent d'un déficit de 50 % par rapport à la quantité normale de protéines produites pour qu'il y ait un dysfonctionnement à l'origine d'une maladie. Or, dans le cas de la MCH, aucun chat

hétérozygote pour la maladie n'a été diagnostiqué comme malade dès sa naissance, et l'apparition des signes de la maladie semble souvent relativement tardive. Les résultats de l'étude de Carlos Sampedrano et collaborateurs corrobore donc l'hypothèse selon laquelle la MCH causée par la mutation A31P se caractérise par un mode de transmission autosomique dominant avec une pénétrance fortement réduite et une expressivité variable (Carlos Sampedrano *et al.*, 2009 ; Longeri *et al.*, 2013).

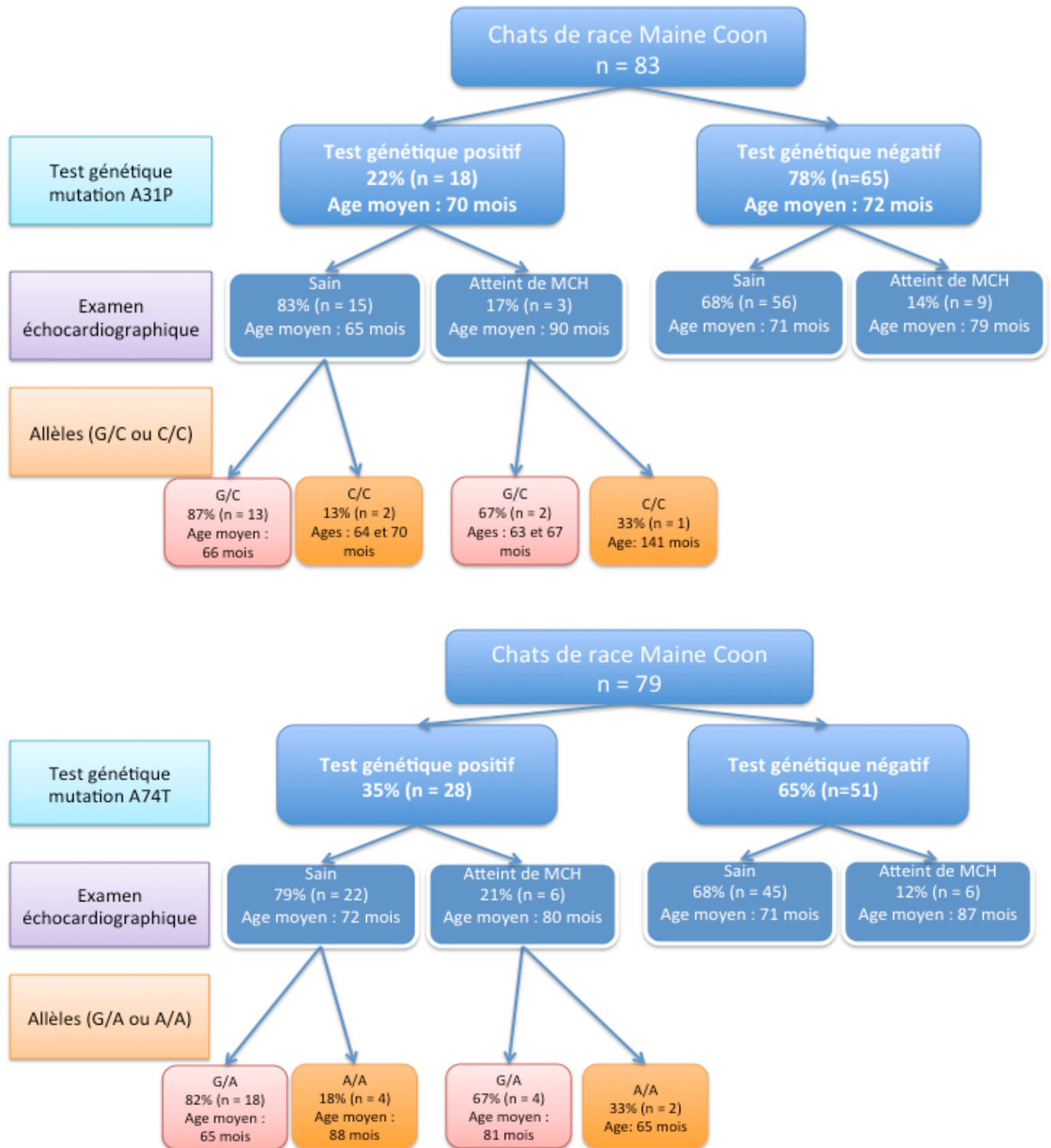
En revanche, les chats de race Maine Coon souffrant de MCH ne sont pas tous porteurs de la mutation A31P (Carlos Sampedrano *et al.*, 2009). Cela amène donc à supposer qu'une ou plusieurs autres mutations touchant le gène *MYBPC3* ou d'autres gènes sarcomériques peuvent être à l'origine de la MCH chez le Maine Coon (Carlos Sampedrano *et al.*, 2009 ; Mary *et al.*, 2010) .

Un polymorphisme du gène *MYBPC3* a également été mis en évidence en 2007 par l'équipe de Nyberg, et a tout d'abord été décrit comme étant une cause génétique alternative de la MCH chez le chat de race Maine Coon. Cette variation de séquence appelée A74T se caractérise par la substitution d'un nucléotide guanine en un nucléotide adénine dans le gène *MYBPC3*, qui conduit au remplacement de l'acide aminé alanine en position 74 dans la protéine par l'acide aminé thréonine (A74T). Les études de validation du variant ont démontré qu'un grand nombre de chats possédait cette variation, quelle que soit leur race. Par ailleurs, le variant A74T n'était pas associé de manière significative avec le statut atteint de MCH, et l'analyse de la structure secondaire de la protéine mutée MYBPC3-A74T a prouvé que cette variation correspondait à un polymorphisme du gène *MYBPC3* dans l'espèce féline, sans aucun rapport avec la MCH (Longeri *et al.*, 2013).

Enfin, la pertinence des mutations A31P et A74T a été discutée par une étude publiée en 2010 par l'équipe de Wess. Ces deux mutations ont été testées sur une population de 83 chats de race Maine Coon (atteints ou exempts de MCH) et 68 chats appartenant à d'autres races. Les chats de race Maine Coon ont été testés pour les deux variants, puis leur phénotype vis-à-vis de la MCH a été évalué par échocardiographie (Figure 54). Il a été démontré dans cette cohorte, que le fait d'être porteur de la mutation A31P ou A74T n'était pas un facteur pronostique pertinent permettant d'affirmer que le chat sera atteint de MCH. De même, l'absence de ces mutations ne permettait pas d'affirmer que le chat ne serait pas atteint par la maladie dans l'avenir (Wess *et al.*, 2010c). Des études ultérieures ont montré que le variant A74T n'est pas associé à la MCH : il s'agit d'un polymorphisme du gène *MYBPC3*, sans aucun rapport avec la MCH (Longeri *et al.*, 2013).

Figure 54 : Résultats de l'étude de corrélation entre la présence des mutations A31P (en haut) et A74T (en bas) dans le génotype, et le fait d'être atteint de myocardiopathie hypertrophique (D'après Wess *et al.*, 2010c).

Les différentes combinaisons d'allèles sont testées : pour la mutation A31P (G/C : hétérozygote ; C/C : homozygote) et pour la mutation A74T (G/A : hétérozygote ; A/A : homozygote).



Suite à cette publication, l'équipe de Meurs ayant découvert la mutation A31P a soutenu la validité de la mutation A31P, car chez l'homme, les mutations du gène *MYBPC3* ont une pénétrance souvent faible, et fortement liée à l'âge.

Or, l'étude de Wess et collaborateurs a porté sur des jeunes chats (âgés de deux à douze ans, moyenne et médiane non indiquées) et la probabilité que certains chats de l'étude porteurs de la mutation A31P, mais exempts de MCH au moment de l'étude, aient déclaré une MCH après la fin de l'étude, est importante (Wess *et al.*, 2010c). L'implication de la mutation A31P dans la MCH chez le Maine a également été confirmée trois années plus tard (Longeri *et al.*, 2013).

L'existence de chats atteints de MCH mais non porteurs de la mutation A31P s'explique par le fait qu'il existe très certainement d'autres mutations à l'origine de la MCH chez le chat de race Maine Coon, comme chez l'homme pour lequel plus de 1400 mutations sur plus de 11 gènes différents sont à l'origine de MCH (Maron *et al.*, 2012).

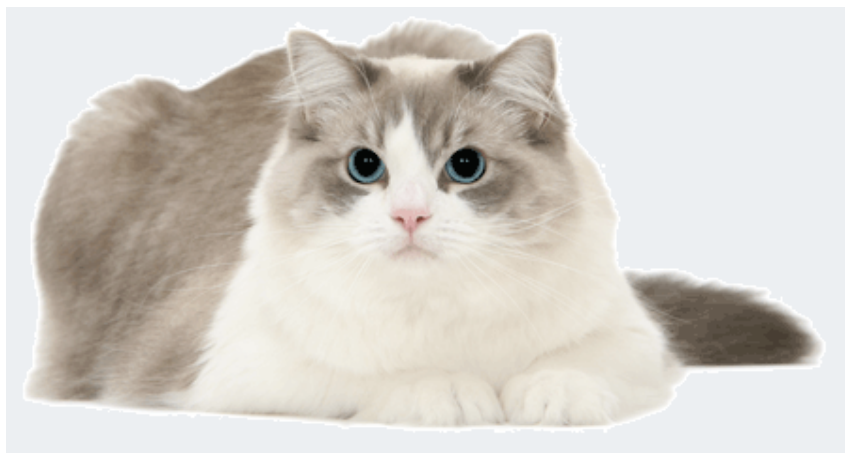
En conclusion, la MCH du Maine Coon est une cardiopathie relativement complexe génétiquement, caractérisée par une hétérogénéité génétique (plus d'une mutation en cause), et qui se transmet sur le mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète et une expressivité variable. De plus, la pénétrance de la maladie augmente avec l'âge. Ces paramètres sont importants à considérer pour une gestion correcte du dépistage des reproducteurs et des plans d'accouplements.

3.2.2. La myocardiopathie hypertrophique chez le Ragdoll

Quelques mots sur le Ragdoll

Le Ragdoll (Figure 55) est un chat de race créé dans les années 1960 en Californie par une éleveuse de Persan. Il est de grande taille, pesant de six à neuf kilogrammes pour les mâles et de quatre à six kilogrammes pour les femelles. Sa fourrure est mi-longue, et sa robe peut être de quatre types : « colourpoint » (oreilles, masque, pieds et queue plus foncés, et corps clair), « mitted » (oreilles, masque, pattes (pieds exceptés) et queue foncés, corps clair, pieds avant présentant un gantage blanc, pattes arrières blanches jusqu'au milieu des cuisses), « bicolore » (oreilles, masque et queue plus foncés, masque en V renversé symétrique de couleur blanche, corps clair et pattes blanches), ou « van » (oreilles, partie supérieure du masque et queue foncés, corps entier blanc). Il s'agit d'un chat très paisible, d'où son nom, qui signifie en anglais « poupée de chiffon » (LOOF, 2009).

Figure 55 : Chat de race Ragdoll (LOOF, 2014).



Présentation clinique

La MCH est une des dominantes pathologiques dans la race Ragdoll. Il s'agit d'une cardiopathie acquise, de présentation clinique similaire à celle du Maine Coon. L'installation de la maladie est cependant en général largement plus précoce chez le Ragdoll (âge moyen de 15 mois au diagnostic) que dans l'espèce féline en général (âge au diagnostic de 7 ans en moyenne) (Lefbom *et al.*, 2001 ; Meurs *et al.*, 2007b ; Trehieu-Sechi *et al.*, 2012).

Les critères cliniques, électrocardiographiques, échocardiographiques, et histologiques de diagnostic de la MCH chez le Ragdoll sont semblables aux critères décrits dans la race Maine Coon.

Données génétiques

Chez le Ragdoll, une mutation (substitution) dans le gène codant la protéine C de liaison à la myosine (MYBPC3) a été mise en évidence en 2007 (Meurs *et al.*, 2007b).

L'équipe qui a étudié l'origine génétique de la maladie, a séquencé des exons et des sites d'épissage du gène *MYBPC3* chez le chat de race Ragdoll. L'ensemble des chats atteints par la MCH (n = 21) possédait, de façon homozygote ou hétérozygote, une unique mutation par substitution d'une seule paire de bases (substitution d'une base azotée cytosine par une thymine à la hauteur du codon 820 : Tableau 11). Cette substitution a pour conséquence un changement de nature de l'acide aminé correspondant dans la protéine codée : l'acide aminé arginine (basique, chargé positivement) est remplacé par l'acide aminé tryptophane (neutre, avec un cycle aromatique hydrophobe). Cette mutation porte le nom de R820W (Meurs *et al.*, 2007b).

Tableau 11 : Séquence d'acides-aminés d'une partie de la protéine MYBPC3 chez le chat contrôle et chez le chat possédant la mutation R820W (Meurs *et al.*, 2007b).

Individu	Séquence d'acides aminés
Chat contrôle	YILERKKKKSFRWMRLNFDLLQELSHEARRMIEGV
Chat présentant la mutation R820W	YILERKKKKSFRWM W LNFDLLQELSHEARRMIEGV

La Figure 56 montre l'effet du remplacement de l'arginine par le tryptophane sur la structure secondaire de la protéine : les structures en hélice α et en feuillet β sont rompues, et l'hydrophobicité de la molécule correspondant à la région mutée augmente.

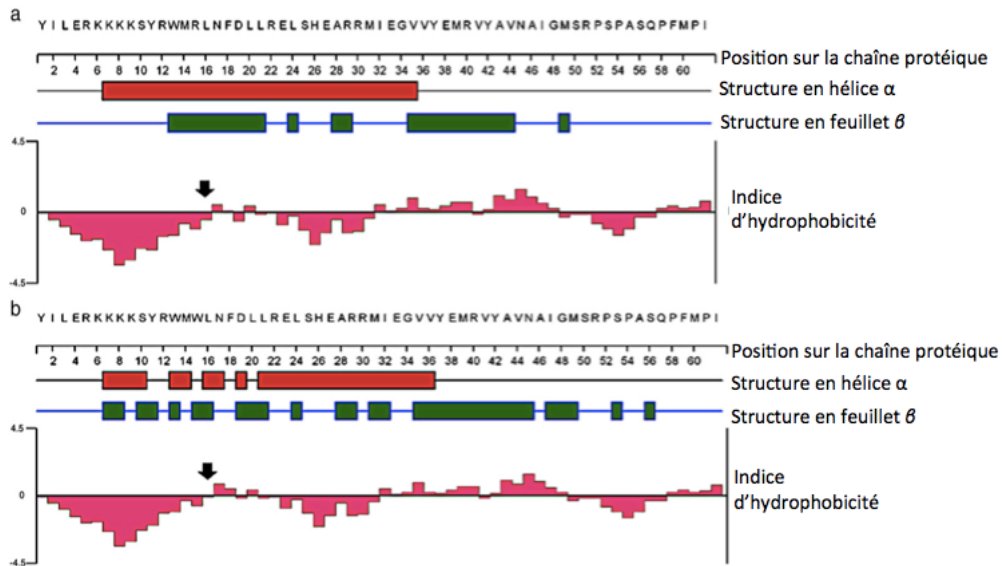
Cette substitution a également pour conséquence l'augmentation de la longueur de la structure en brin étendu, incluant désormais dans cette structure en brin étendu le domaine contenant la mutation (Tableau 12, Figure 56).

Tableau 12 : Changements de structure touchant la protéine codée par le gène *MYBPC3* chez un chat de race Ragdoll possédant la mutation responsable de la myocardiopathie hypertrophique (Meurs *et al.*, 2007b).

Structure au sein de la protéine	Proportion chez le chat contrôle	Proportion chez le chat porteur de la mutation R820W
Hélice α	44 %	40 %
Structure en brin étendu	9 %	17 %
Pelote aléatoire	47 %	43 %

Figure 56 : Comparaison de la structure secondaire de la protéine MYBPC3 en fonction de la nature de l'acide aminé en position 15 sur le domaine 6 de la protéine : arginine « R » (diagramme (a), chat sain) ou tryptophane « W » (diagramme (b), chat atteint de MCH) (Meurs *et al.*, 2007b).

La répartition des structures secondaires de type hélice α et feuillet β formant la structure en trois dimensions de la protéine MYBPC3 est détaillée chez un chat possédant la mutation MYBPC3-R820W (b) et chez un chat ne possédant pas cette mutation (a). Les structures amphiphiles de type hélice α sont représentées en rouge. Les structures amphiphiles de type feuillet β sont représentées en vert. L'hydrophobicité de chacune des portions du gène est représentée en rose : un indice positif (au dessus de l'axe) témoigne d'une hydrophobicité plus importante. La mutation MYBPC3-R820W est à l'origine du remplacement d'un acide aminé hydrophile (arginine) par un acide aminé plus hydrophobe (tryptophane). La région mutée est donc plus hydrophobe et sa structure secondaire est modifiée par rapport à la protéine « sauvage ». La conformation en hélice α et en feuillet β de la chaîne protéique est morcelée, et plus étendue au sein de la protéine. Les structures amphiphiles de type hélice α et feuillet β sont plus nombreuses et de taille réduite, respectivement entre les acides aminés 10 et 20 (hélice α) et entre les acides aminés 6 et 56 (feuillet β).



La mutation R820W se situe au niveau du domaine 6 du gène, qui est un domaine codant une fibronectine de type III. La fonction spécifique du domaine 6 n'a pas encore été démontrée. On suppose actuellement que le domaine 6 interagit avec le domaine 9 du gène MYBPC3, formant ainsi une structure permettant de recouvrir « en collier » le filament épais de la chaîne lourde de myosine, dans les sarcomères (Oakley *et al.*, 2004)

La mutation R820W est spécifique de la race Ragdoll et n'a pas été mise en évidence chez des chats d'autres races atteintes de MCH (Meurs, 2010a; Longeri *et al.*, 2013). Cette mutation est par ailleurs différente de la mutation A31P responsable de la MCH chez le Maine Coon, et sa localisation sur le gène est différente. Cette localisation différente est en accord avec l'hypothèse que ces deux mutations ne sont pas héritées d'un ancêtre commun, Ragdoll et Maine Coon ne partageant pas d'ancêtres communs (Meurs *et al.*, 2007b; Meurs, 2010a).

Une étude très récente a porté sur un total de 236 chats de race Ragdoll provenant du monde entier. Un questionnaire sur la MCH a été envoyé à tous les propriétaires de ces chats (Borgeat *et al.*, 2014). 156 chats possédaient le génotype sauvage (non muté), 68 étaient hétérozygotes pour la mutation R820W et 12 étaient homozygotes pour cette mutation. Ces résultats ont permis d'affirmer que la mutation R820W a une prévalence élevée dans la population étudiée (34 % soit 80 chats sur les 236 chats faisant partie de l'étude).

Une autre étude réalisée en Grande Bretagne en 2010 (Casamian-Sorrosal *et al.*, 2010) a également conclu à une prévalence élevée de la mutation dans les populations de Ragdoll. Cependant, l'analyse des génotypes de Ragdolls en Italie et aux États-Unis ont mis en évidence des prévalences de la mutation respectivement de 17 % (141 chats génotypés) et 23 % (24 chats génotypés) (Longeri *et al.*, 2013). La prévalence plus importante de l'étude de Borgeat et collaborateurs (34 %) peut ne pas être représentative de la population générale des chats de race Ragdoll, en raison du mode de récolte des données. En effet, les propriétaires ayant répondu au questionnaire étaient en général des personnes conscientes de la prédisposition du Ragdoll à la MCH, ceci étant à l'origine d'un biais de sélection impossible à quantifier (Borgeat *et al.*, 2014).

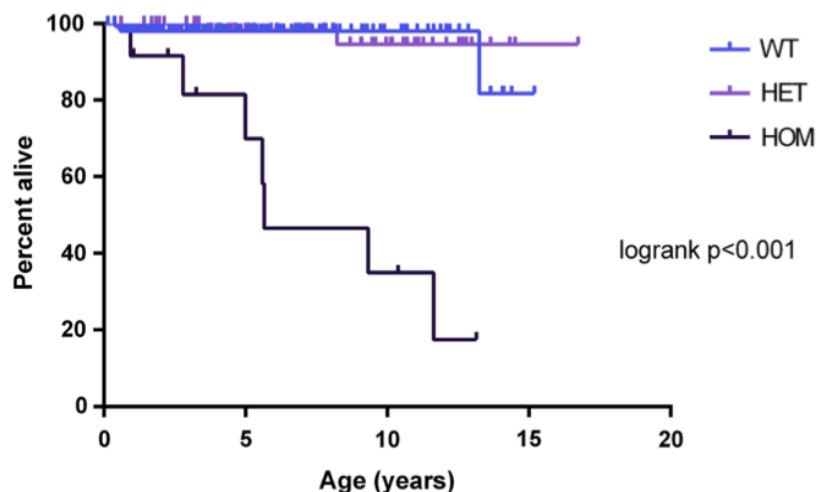
Chez le Ragdoll, le mode de transmission n'a pas encore été mis en évidence de façon formelle. Cependant, les données publiées ont permis de supposer un mode de transmission autosomique semi-dominant (à pénétrance incomplète), les homozygotes mutés étant atteints plus précocement que les hétérozygotes (Meurs *et al.*, 2007b, Borgeat *et al.*, 2014).

Il existe une différence importante en ce qui concerne l'expression de la mutation : les chats homozygotes sont souvent gravement atteints, avec des épisodes de thrombo-embolies et d'IC congestive survenant avant l'âge de deux ans, alors que les hétérozygotes sont atteints de formes plus atténuées de la maladie (Meurs, 2010a). L'âge d'apparition de la maladie est également en général plus précoce pour les chats homozygotes que pour les chats hétérozygotes, la MCH se déclarant en moyenne 18 mois plus tôt chez les homozygotes mutés (Meurs *et al.*, 2007b).

Enfin, il a été démontré que les chats homozygotes pour la mutation R820W ont une espérance de vie plus courte que les chats hétérozygotes pour cette même mutation (Figure 57). Il n'y a cependant pas de différence significative concernant l'espérance de vie des chats hétérozygotes pour la mutation par rapport aux chats ne portant pas cette mutation. Cela permet de supposer que, même si les chats hétérozygotes pour la mutation R820W déclarent une MCH, les symptômes sont suffisamment bénins pour que leur espérance de vie ne soit pas diminuée (Borgeat *et al.*, 2014).

Figure 57 : Courbe de Kaplan Meier représentant les différentes courbes de survie pour des chats hétérozygotes pour la mutation MYBPC3-R820W (HET), des chats homozygotes pour cette même mutation (HOM) et des chats possédant l'allèle non muté pour le gène MYBPC3 (WT) (Borgeat *et al.*, 2014).

En abscisse est indiquée l'âge en nombre d'années et en ordonnée le pourcentage de chats en vie.



3.2.3. La myocardiopathie hypertrophique chez le Sphynx

Quelques mots sur le Sphynx

Le Sphynx (Figure 58) est une race récente de chat nu, créé au Canada en 1966. Le Sphynx est proche du Devon Rex, et ces deux races possèdent une mutation du gène *KRT71* (*keratin 71*) codant pour une kératine présente dans la gaine épithéliale interne des poils (Gandolfi *et al.*, 2010). Cette mutation est à l'origine de la nudité du Sphynx, race caractérisé par une peau glabre, possédant parfois un discret duvet. Le Sphynx possède une tête triangulaire, avec un dessus du crâne et un front plats et un museau assez court. Les Sphynx ont un abdomen relativement rond et une longue queue glabre. La peau peut parfois être très plissée chez certains d'entre eux. Il s'agit de chats au caractère très particulier, très proche de l'homme et souvent considérés comme des « chats-chien » (LOOF, 2009).

Figure 58 : Chat de race Sphynx (LOOF, 2014).



Prévalence, épidémiologie et données cliniques

Le Sphynx étant une race relativement récente, peu d'études ont été réalisées sur la MCH chez ce chat.

Une étude réalisée en France en 2012 sur une population de 114 Sphynx européens a permis de mettre en évidence une prévalence de 20,2 % pour la MCH (Chetboul *et al.*, 2012).

Les caractéristiques épidémiologiques de la MCH chez le Sphynx ont été étudiées par deux études : une étude américaine portant sur une population de 18 Sphynx (Silverman *et al.*, 2012) et une étude européenne, portant sur une population de 22 Sphynx (Trehou-Sechi *et al.*, 2012). L'âge d'apparition des symptômes était plus précoce dans la cohorte de Sphynx américains (âge médian de deux ans) que dans la population féline globale (âge médian de cinq à six ans) (Silverman *et al.*, 2012)). L'âge médian de diagnostic de la MCH était de 3,5 ans dans la cohorte européenne de Sphynx (*versus* 8 ans pour les chats Européens) (Trehou-Sechi *et al.*, 2012). Il a néanmoins été noté que la prévalence de la MCH augmente avec l'âge des chats (Chetboul *et al.*, 2012).

La présentation clinique de la MCH chez le Sphynx est similaire à celle des autres races de chats. La cardiopathie se caractérise par une hypertrophie de la paroi du ventricule gauche,

avec, dans certains cas, un SAM à l'origine d'une obstruction dynamique de la chambre de chasse du ventricule gauche (Silverman *et al.*, 2012). Comme pour les autres races, le Doppler tissulaire myocardique peut être utile pour le dépistage précoce de la MCH chez le Sphynx (Chetboul *et al.*, 2012).

Données génétiques

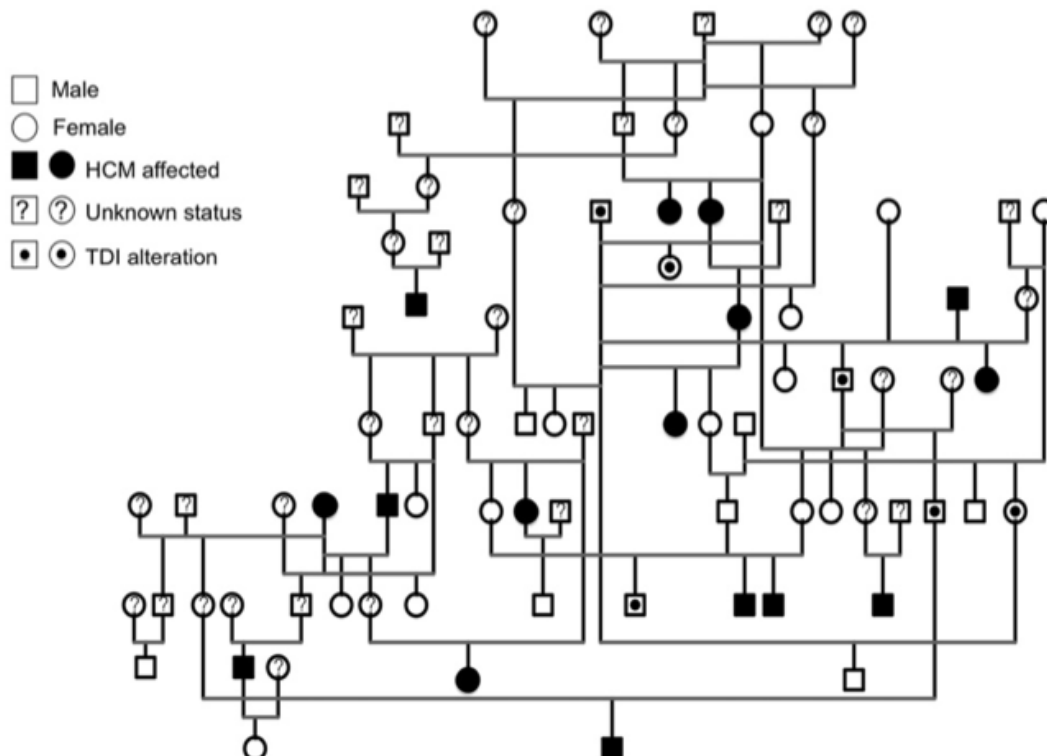
La race Sphynx semble être prédisposée à la MCH, ce qui laisserait supposer une origine héréditaire.

Les différentes études de pedigree (Figure 59) réalisées en 2012 ont effectivement permis de suggérer un mode de transmission de type autosomique dominant à pénétrance incomplète, sans prédisposition de sexe (Chetboul *et al.*, 2012 ; Silverman *et al.*, 2012).

Figure 59 : Pedigree d'une lignée de Sphynx (81 chats) dans laquelle ségrège la myocardiopathie hypertrophique (Chetboul *et al.*, 2012).

Male : Mâle ; Female : femelle ; HCM affected : animal atteint de MCH ; Unknown status : animal dont le statut vis à vis de la MCH est inconnu ; TDI alteration : animal présentant des anomalies à l'examen Doppler tissulaire.

Les animaux atteints de MCH sont représentés en noir et les animaux non-atteints sont représentés en blanc. Les animaux représentés par un cercle ou un carré blanc et un point noir dedans présentent des altérations à l'examen en Doppler tissulaire. Ce pedigree permet de conclure à un mode de transmission autosomique dominant avec une pénétrance incomplète.



La mutation A31P du gène *MYBPC3* à l'origine de la MCH chez le Maine Coon a été recherchée chez les chats de race Sphynx mais n'a pas été retrouvée (Chetboul *et al.*, 2012).

Une étude gène-candidat réalisée en 2009 sur 8 gènes codant des protéines cardiaques (troponine I, troponine T, MYBPC3, chaîne légère essentielle de la myosine, chaîne légère

régulatrice de la myosine, alpha tropomyosine, actine, chaîne lourde de la beta-myosin) n'a pas permis d'identifier de mutation dans les exons et les sites d'épissage de ces gènes chez le Sphynx (Meurs *et al.*, 2009b). Une autre étude de type gène candidat a été réalisée en 2013 pour un ensemble de cinq gènes identifiés comme étant à l'origine de certaines formes de MCH chez l'homme. Cette étude a permis de montrer que les gènes codant la myomésine (*MYOM1*), la protéine MYBPC3 (*MYBPC3*), la flavoprotéine NADH deshydrogénase 2 (*NDUFV2*), la β -hydroxylase (*ASPH*) et la phosphofructokinase du muscle (*PFKM*) n'étaient pas associés à la MCH chez le Sphynx (Reina Doreste *et al.*, 2013).

Un programme de recherche est actuellement en cours, visant à identifier le(s) locus de prédisposition à la MCH chez le Sphynx (www.morrisanimalfoundation.org).

3.2.4. La myocardiopathie hypertrophique chez le British Shorthair

Quelques mots sur le British Shorthair

Le British Shorthair (Figure 60) est un chat originaire d'Angleterre. Cette race fut quasiment décimée lors de la Première Guerre Mondiale, et a alors été croisée avec des chats sans pedigree afin de reconstituer la race. Le British Shorthair est un chat de taille moyenne à grande (quatre à six kilogrammes). Il possède un corps musclé, à ossature épaisse, une tête ronde, de grands yeux et un museau rond et court. À la différence du British Longhair, le British Shorthair possède un poil court et un sous-poil épais et imperméable, donnant une fourrure dense comparable à de la laine. Toutes les couleurs de robes sont reconnues (LOOF, 2010).

Figure 60 : Chat de race British Shorthair (LOOF, 2014).



Prévalence, épidémiologie et données cliniques

La présence de nombreux cas familiaux de MCH chez le British Shorthair suggère également une origine génétique de la maladie dans cette race.

Une étude réalisée sur un total de 329 chats de race British Shorthair au Danemark a mis en évidence une prévalence de 8,5 % (28 chats sur 329), avec une prédominance de mâles parmi les chats atteints (82,1 % soit 23 chats sur 28). Dans cette étude, l'âge médian au diagnostic était de 2,3 ans, et la MCH était parfois diagnostiquée dès l'âge de 8 à 10 mois. Les

mâles déclaraient en général la maladie plus précocement que les femelles (Granström *et al.*, 2011).

Les critères diagnostiques de MCH chez le British Shorthair sont similaires à ceux définis pour l'espèce féline en général.

Données génétiques chez des British Shorthair européens

Le mode de transmission de la MCH n'a pas été démontré à ce jour, en raison notamment du manque de données familiales sur le British Shorthair. Une ségrégation familiale de la maladie est néanmoins fortement suspectée. L'équipe de Granström a mis en évidence dans son étude que la moitié des chats atteints possédait au moins un parent atteint de MCH, et dans plusieurs cas le père et le fils étaient tous les deux malades. Ceci permet d'exclure un mode d'hérédité lié à l'X (Granström *et al.*, 2011).

3.2.5. La myocardiopathie hypertrophique chez l'American Shorthair

Quelques mots sur l'American Shorthair

L'American Shorthair (Figure 61) est un chat de taille moyenne, descendant probablement des chats de ferme américains utilisés pour garder les récoltes contre les souris. C'est un chat très rustique. Sa tête est relativement carrée, et son museau est court, bien marqué et carré. Sa conformation est proche de celle du chat européen. Presque toutes les couleurs de robes sont acceptées, et le pelage est court et dense (LOOF, 2009).

Figure 61 : Chat de race American Shorthair (LOOF, 2014).



Prévalence, épidémiologie et données cliniques

Il n'existe actuellement pas de données précises concernant les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la MCH chez l'American Shorthair. Les critères diagnostiques de la cardiopathie sont similaires à ceux définis pour les autres races de chats.

Données génétiques chez l'American Shorthair

Une étude a été réalisée en 1997, portant sur un groupe de 28 chats de race American Shorthair appartenant à une même lignée, et représentant 8 générations. Dans cette lignée, un nombre significatif de chats étaient diagnostiqués comme atteints de MCH, à la suite d'un examen clinique et échocardiographique (11 chats sur 28), ou un SAM a été observé (4 chats

sur 28). L'absence de cause primaire pouvant engendrer une hypertrophie myocardique gauche (hyperthyroïdie, hypertension artérielle systémique) a permis de conclure à une MCH primaire. L'étude des pedigrees de cette lignée laisse supposer un mode d'hérédité de type autosomique dominant, car les deux sexes étaient atteints, et il y avait des animaux atteints dans toutes les générations. De plus, chaque chat atteint possédait au moins un parent atteint (Meurs *et al.*, 1997).

3.2.6. La myocardiopathie hypertrophique chez le Persan

Quelques mots sur le Persan

Le Persan (Figure 62) est un chat de taille moyenne à poil long créée en Angleterre à la fin du XIX^e siècle à partir du croisement entre des chats à poil long originaires du Moyen Orient et des chats à poil court originaires d'Angleterre. Il s'agit d'un chat très calme et proche de l'homme. Sa tête est ronde et massive, et il possède un nez écrasé, large et très court. Ses oreilles sont petites et presque rondes. Le Persan possède un corps assez massif dans son ensemble. Sa robe est longue sur tout le corps, avec un sous-poil très abondant. Toutes les robes et couleurs sont reconnues (LOOF, 2011).

Figure 62 : Chat de race Persan (Pascolo J.M., 2014).



Prévalence, épidémiologie et données cliniques

La MCH touche fréquemment les chats de race Persan. Une étude a été réalisée en 2011 par l'Unité de Cardiologie d'Alfort, sur un total de 344 chats atteints de MCH, de cinq races différentes, dont 41 Persans. Chez ces derniers, l'âge médian au diagnostic était de 11 ans [0,9-17,5], donc significativement plus élevé que pour les races précédemment décrites. Trente-neuf chats sur les 41 Persans étudiés étaient asymptomatiques à l'âge du diagnostic. L'âge médian de survie des Persans étudiés était de 15 ans [4,5-19,5] (Trehieu-Sechi *et al.*, 2011).

Dans cette même étude, un souffle cardiaque a été détecté à l'auscultation chez 37 Persans sur les 39 asymptomatiques, et un bruit de galop a été entendu chez un seul d'entre eux.

L'examen ECG a révélé des arythmies (ESV) pour un seul des chats étudiés.

Un souffle était audible à l'auscultation des deux Persans symptomatiques. Ces deux derniers souffraient de dyspnée (œdème pulmonaire ou épanchement pleural par IC congestive). L'un d'eux présentaient également des signes de thrombo-embolie aortique.

À l'examen échocardiographique, le diamètre sous-aortique du septum interventriculaire était d'épaisseur significativement supérieure chez les Persans atteints de MCH par rapport aux chats d'autres races. Le septum interventriculaire était également plus fréquemment hypertrophié (hypertrophie focale ou associée à une hypertrophie diffuse de la paroi du ventricule gauche). Enfin, une obstruction dynamique du flux aortique était plus fréquemment observée chez les Persans.

Sur un total de 41 Persans, la MCH se caractérisait par différentes formes (Trehieu-Sechi *et al.*, 2011) :

- Une hypertrophie localisée du septum interventriculaire (18/41) ;
- Une hypertrophie ventriculaire gauche avec un épaissement plus marqué du septum interventriculaire (11/41) ;
- Une hypertrophie ventriculaire gauche asymétrique avec un épaissement plus marqué de la paroi libre du ventricule gauche (4/41) ;
- Une hypertrophie ventriculaire gauche diffuse et symétrique (8/41).

Données génétiques chez le Persan

L'origine génétique de la MCH chez le Persan a été décrite pour la première fois en 1994, par l'équipe de L. Martin (Colorado State University). Cette équipe a étudié une colonie de chats de race Persan dans laquelle des croisements consanguins ont été réalisés. Une MCH a été diagnostiquée chez 15 Persans sur les 28 étudiés (détection de signes échocardiographiques d'hypertrophie ventriculaire gauche et exclusion d'autres causes d'hypertrophie myocardique). Cette étude a montré le caractère héréditaire de la MCH dans cette race. Le mode d'héritabilité de la MCH dans cette lignée était très probablement de type autosomique dominant (Martin *et al.*, 1994).

3.2.7. La myocardiopathie hypertrophique chez le chat européen

Quelques mots sur le chat Européen

Le chat Européen (Figure 63) s'est développé sans influence de règles d'élevage particulières. Il s'agit d'un chat très robuste et rustique, existant encore à l'état semi sauvage en France. Il est également appelé « chat de gouttière » ou « chat domestique ». Il est de taille moyenne, et possède une musculature assez importante, des pattes de taille moyenne, une tête assez ronde, et des oreilles de taille moyenne. Toutes les couleurs de robes sont acceptées et le poil est relativement court. Communément, tout chat n'appartenant à aucune des autres races reconnues au Livret Officiel des Origines Félines est qualifié de « chat européen » (LOOF, 2009).

Figure 63 : chat Européen (LOOF, 2009).



Prévalence, épidémiologie et données cliniques

Même si la MCH atteint les chats de race avec une prévalence importante, les chats dits « européens », ou chats croisés sont également touchés.

La prévalence de la MCH est très variable en fonction des lignées : une étude portant sur une population de chats européens présentés en hôpital vétérinaire (North Carolina State University) a mis en évidence une prévalence d'environ de 1,6 % pour la MCH (Atkins *et al.*, 1992), alors que l'étude réalisée par Nakagawa et collaborateurs en 2002 sur une famille de chats européens dans laquelle ségrégue la MCH a conclu à une prévalence de 12,5 %.

Il existe différentes formes de MCH chez le chat européen, avec des présentations cliniques variées et des modifications échocardiographiques allant de l'épaississement localisé en région sous-aortique à une hypertrophie diffuse du myocarde dont l'épaisseur dépasse six millimètres. À l'ECG, des arythmies seront mises en évidence dans 30 % des cas (blocs de branche, blocs atrio-ventriculaires) (Nakagawa *et al.*, 2002).

Données génétiques chez le chat Européen

Plusieurs cas de MCH touchant des chats Européens appartenant à une même lignée ont été décrits, mais le nombre de chats ayant bénéficié d'un dépistage échocardiographique dans les lignées étudiées étant trop faible, il n'a pas été possible de conclure à une origine génétique pour ces cas de MCH (Baty *et al.*, 2001).

L'origine familiale de la MCH a cependant été mise en évidence dans une étude réalisée par l'équipe de Nakagawa, incluant un nombre limité d'animaux (8) appartenant à la même lignée. La MCH avait été diagnostiquée chez deux d'entre eux, et deux autres étaient suspects de MCH. Les pedigrees ont permis de conclure à une origine génétique de la maladie dans cette lignée, mais le mode d'hérédité n'a pas pu être identifié (Nakagawa *et al.*, 2002).

Quatrième partie :

Application des découvertes à l'élevage canin et félin

En raison de la présence et de la gravité des myocardiopathies dans les races félines et canines étudiées, la demande de solutions pour diminuer voire éradiquer les cardiopathies au sein d'une race est croissante de la part des éleveurs. Les généticiens et les cardiologues utilisent par conséquent les résultats des études cliniques, échocardiographiques et génétiques pour proposer un ensemble d'outils visant à diminuer l'importance des myocardiopathies chez les carnivores domestiques.

La gestion de ces maladies en élevage passe à la fois par l'utilisation de tests génétiques, lorsque ceux-ci sont disponibles, mais également par des dépistages cliniques et échocardiographiques réguliers. Le rôle du vétérinaire en tant que conseiller en gestion de la reproduction est fondamental afin d'éviter des interprétations abusives ou réductrices des résultats des tests génétiques et des examens de dépistage échocardiographique.

1. Les tests de dépistage

Les nouvelles techniques d'identification des mutations ont mis en évidence un nombre important de gènes responsables de maladies génétiques.

Les tests génétiques ont plusieurs **objectifs** en complément d'un examen clinique qui reste indispensable (Meurs, 2010a) :

- La confirmation du diagnostic de myocardiopathie primaire chez un animal symptomatique.
- La prévention, en dépistant les animaux porteurs sains d'une mutation, afin d'anticiper l'apparition des premiers symptômes.
- Le dépistage des animaux reproducteurs porteurs sains, afin d'adapter les croisements et d'éviter que la mutation soit transmise de manière silencieuse.

De nombreux tests ont été développés à la fois en Europe et aux États-Unis. En 2010, plus de 50 tests génétiques étaient commercialisés dans le monde (Abitbol *et al.*, 2010). Il est possible pour les vétérinaires d'utiliser ces tests ADN lors de dépistages, depuis une vingtaine d'années.

Le résultat d'un test est valable à vie, et est réalisable dès la naissance de l'animal. Cependant, un test pour une maladie donnée n'est valable que pour une race donnée, les mutations étant spécifiques de races, comme, par exemple, pour la MCH du Maine Coon et du Ragdoll.

Un **test positif** signifie que l'animal est porteur d'une mutation associée significativement avec une maladie et qu'il est susceptible de transmettre cette mutation à sa descendance. Cependant, en raison d'une pénétrance et d'une expressivité variable pour la maladie, l'animal ne déclarera pas forcément la cardiopathie dans sa vie.

Un **test négatif** ne permet pas d'affirmer que l'animal ne sera jamais atteint par la cardiopathie étudiée ; un test évalue en effet la présence d'une mutation donnée, et plusieurs mutations sont souvent à l'origine d'une même maladie. Il est donc toujours possible qu'un animal ne possède pas dans son génome la mutation testée pour une maladie donnée mais qu'il possède une autre mutation à l'origine de la même affection (Abitbol *et al.*, 2010).

Lorsque la mutation à l'origine d'une maladie a été identifiée, le développement d'un test génétique est alors possible, mais la **mise en place** de ce test doit se faire avec précaution. Les producteurs du test doivent accompagner celui-ci d'un ensemble de recommandations.

1.1. Le processus de développement d'un test génétique et les principes généraux des tests

1.1.1. Le développement d'un test génétique

Il est tout d'abord nécessaire de valider la mutation mise en évidence dans une population de chiens ou de chats, afin de prouver l'association entre la mutation et la maladie que l'on veut diagnostiquer/dépister par le test (Abitbol, 2010).

On définit pour cela trois cohortes d'animaux :

- Des animaux atteints par la maladie, de la race étudiée ;
- Des animaux indemnes de la maladie, de la race étudiée ;
- Un ensemble d'animaux provenant de races apparentées ou non.

Il convient ensuite d'analyser le génotype de l'ensemble des animaux étudiés, afin de définir la présence ou l'absence de l'allèle muté pour chaque animal. Ces résultats sont analysés par rapport au mode de transmission connu de la maladie (Abitbol, 2010).

- Pour une **maladie monogénique à transmission autosomique récessive**, tous les animaux atteints doivent être homozygotes pour la mutation, et certains animaux indemnes peuvent être hétérozygotes pour cette mutation (porteurs sains). Il peut exister des animaux indemnes homozygotes pour la mutation, notamment dans le cas de maladies se déclarant tardivement (ces animaux peuvent encore déclarer la maladie ultérieurement) ou à pénétrance incomplète (rare pour les maladies récessives).
- Pour une **maladie monogénique à transmission autosomique dominante**, les animaux atteints seront soit homozygotes soit hétérozygotes pour l'allèle muté. Les animaux indemnes sont en général exempts de l'allèle muté, mais en raison de la pénétrance souvent incomplète dans le cas de maladies génétiques au mode de transmission autosomique dominant, des animaux indemnes de la maladie, peuvent aussi être hétérozygotes pour l'allèle muté (l'allèle muté ne s'exprimera pas).

Il est ensuite nécessaire de vérifier l'absence de la mutation dans le groupe d'animaux n'appartenant pas à la race étudiée. Si la mutation existe dans d'autres races, il faut vérifier que cette mutation est également associée à la maladie dans les autres races.

Une fois la validation populationnelle de la mutation effectuée, le test génétique peut être développé. Notons que la validation physiopathologique de la mutation a pu ou non être effectuée dans l'étude initiale.

L'objectif du test est d'obtenir une détection de l'allèle muté et sauvage du locus avec une sensibilité et spécificité se rapprochant au maximum de 100 %. Les techniques ayant été développées ont actuellement une sensibilité et spécificité excellentes, et sont également peu coûteuses (Abitbol, 2010).

Les tests disponibles actuellement se basent sur la technique de PCR (polymerase chain reaction) et utilisent des amorces spécifiques de l'allèle recherché, afin d'amplifier la portion de gène portant la mutation et de détecter spécifiquement la mutation associée à la maladie (PCR en temps réel). D'autres techniques moins utilisées sont disponibles, comme la PCR classique suivie d'une électrophorèse en gel, la technique des « polymorphisme de longueur des fragments de restriction », les méthodes utilisant des oligonucléotides spécifiques d'allèles, et les techniques s'appuyant sur la spectrophotométrie de masse (Lyons, 2010).

Le type de test génétique sera déterminé en fonction des connaissances actuelles sur l'origine génétique de la maladie. Ce test sera accompagné d'un ensemble de recommandations, notamment concernant l'interprétation à donner à un résultat positif (en fonction notamment de la pénétrance de la maladie), et les races qui pourront être incluses dans ce test.

Une fois que les recommandations concernant le test génétique sont définies, il sera possible de commercialiser le test pour déterminer les chats porteurs du ou des allèle(s) responsable(s) de la maladie, et ainsi d'identifier les animaux à risque (Meurs, 2010a).

1.1.2. Différents types de tests

Il existe trois types de tests, dont la fiabilité de détection varie (Abitbol, 2010).

Les **tests protéiques** détectent la protéine codée par le gène en cause. Ce test est réalisable avant même d'avoir déterminé le locus exact impliqué dans la maladie. Cependant, il est difficile de caractériser les hétérozygotes avec ce test. Il faut également que le tissu dans lequel la protéine est exprimée soit accessible au prélèvement. Ce type de test n'a pas été développé pour le dépistage des cardiopathies des carnivores domestiques.

Les **tests ADN indirects** identifient la région chromosomique contenant la mutation, en détectant des marqueurs liés génétiquement à la mutation recherchée. Ces tests sont spécifiques d'une seule race car les haplotypes liés à une maladie sont différents en fonction des races. Cependant, même si les allèles transmis avec la mutation ont été mis en évidence, il peut exister des recombinaisons de type *crossing over* qui vont modifier l'haplotype et ainsi causer des erreurs de diagnostic/dépistage. Ce type de test n'est pas commercialisé en France à l'heure actuelle. Il existe un test ADN indirect pour la MCD du chien d'Eau Portugais commercialisé aux États-Unis (voir 4.).

Les **tests ADN directs** mettent en évidence directement la mutation causale sur l'ADN, par amplification et détection de la zone d'intérêt. Ces tests sont très fiables. Ils sont également spécifiques de race. Les tests ADN des cardiopathies des carnivores domestiques commercialisés en France sont de ce type.

1.1.3. Réalisation pratique d'un test génétique

Un test de dépistage d'une maladie héréditaire s'effectue en général à partir d'un prélèvement de cellules réalisé par frottis buccal ou par prise de sang (tube EDTA). Il est également possible d'extraire de l'ADN à partir de biopsies ou de prélèvements suite à une autopsie, de sperme congelé (paillettes) ou même de tissus fixés et inclus en paraffine.

Le laboratoire effectuant un test donné extrait l'ADN à partir de cellules, amplifie la portion de gène sur lequel se situe la mutation et détermine quels sont les deux allèles que porte l'animal étudié pour le locus analysé (Abitbol, 2010).

1.2. Chez le Boxer

Chez le Boxer, l'ARVC est associée à une mutation du gène *STRN* codant la protéine striatine. Se basant sur cette découverte, un test génétique de dépistage a été développé aux États-Unis. Ce test est valable uniquement pour le dépistage de cette myocardiopathie dans les lignées américaines de Boxers, car il a été montré que la mutation du gène *STRN* était absente dans les lignées européennes (Dukes McEwans *et al.*, 2010 ; NCSU, 2014a).

Ce test est proposé par le *Veterinary Cardiac Genetics Laboratory* de l'Université de Caroline du Nord (NCSU), situé à Raleigh en Caroline du Nord et coûte 51 dollars. En 2014, 1690 chiens de race Boxer avaient bénéficié de ce test. Parmi ces 1690 chiens, 53 % (980 chiens) ne possédaient pas l'allèle muté (homozygotes normaux), 41 % (693 chiens) possédaient une version de l'allèle muté (hétérozygotes), et 6 % (101 chiens) possédaient deux versions de l'allèle muté (homozygotes mutés) (NCSU, 2014a).

Le test est accompagné de recommandations sur son utilisation, qui doit se faire avec précaution, notamment en ce qui concerne l'interprétation des résultats et leur utilisation en élevage (cf. *Partie 4 : 2*) (NCSU, 2014a).

1.3. Chez le Doberman

La découverte de l'association de la MCD du Doberman avec la présence d'une mutation du gène *PDK4* (Meurs *et al.*, 2012) a été également accompagnée du développement d'un test génétique de dépistage de la mutation du Doberman. Ce test est proposé aux États-Unis par les laboratoires *Veterinary Cardiac Genetics Laboratory* de l'Université de Caroline du Nord (NCSU) situé à Raleigh en Caroline du Nord (51 dollars) et VetGen, situé dans le Michigan (75 dollars) (NCSU, 2014b ; VetGen, 2014).

Ce test est uniquement valable pour le dépistage de cette myocardiopathie dans les lignées américaines de Dobermans, car il a été montré que la mutation du gène *PDK4* était absente dans les lignées européennes (Owczarek-Lipska *et al.*, 2012). Malgré la découverte d'un locus sur le chromosome 5 associé significativement avec la MCD dans les lignées européennes de Dobermans, aucun test indirect n'a été développé en Europe pour dépister ce locus ségrégant avec la maladie (Mausberg *et al.*, 2011).

1.4. Chez le chien d'Eau Portugais

Un test ADN indirect a été mis en place afin de mettre en évidence un marqueur situé sur le chromosome 8 du chien, et qui ségrégue fortement avec la MCD (forme juvénile) chez le chien d'Eau Portugais (Werner *et al.*, 2008). Ce test est développé par le laboratoire PennGen de l'University of Pennsylvania (Werner *et al.*, 2008). Il est facturé 250 dollars (UPEN, JDCM Laboratory, 2007).

Ce test permet de mettre en évidence les porteurs sains (hétérozygotes pour les marqueurs). Cette maladie étant à transmission autosomique récessive, il est important de pouvoir détecter ces derniers pour éviter de les croiser entre eux.

Cependant, ce test n'est pas fiable à 100 % en raison de sa nature indirecte. En effet, son objectif est de mettre en évidence des marqueurs ségrégant avec le locus associé à la maladie : on peut donc obtenir des faux positifs ou des faux négatifs. Il n'existe actuellement aucune donnée concernant la quantification de la sensibilité et de la spécificité de ce test.

1.5. Chez le Maine Coon

Chez le Maine Coon, l'ensemble des tests développés dans le monde entier se base sur la détection de la mutation MYBPC3-A31P, mise en évidence en 2005 par Meurs et ses collaborateurs. Ce test est proposé par un total de 11 laboratoires à travers le monde (Tableau 13).

Tableau 13 : Liste des laboratoires proposant le test de détection de la mutation MYBPC3-A31P chez le chat de race Maine Coon (PennGen, 2014).

Laboratoire	Situation	Tarif du test
NCSU Veterinary Cardiac Genetics Laboratory	Caroline du Nord, États-Unis	51 dollars
UC Davis – Veterinary Genetics Laboratory	Californie, États-Unis	40 dollars
Antagene	Rhône-Alpes, France	68 euros
Genindexe	Charente Maritime, France	53 euros
Genomia s.r.o	République Tchèque	53 euros
Laboklin	Basse-Franconie, Allemagne	50 euros
Genefast	Bologne, Italie	43 euros
Langford Veterinary Services	Bristol, Grande Bretagne	33 livres
Progenus	Province de Namur, Belgique	non communiqué
Van Haeringen	Pays-Bas	48 euros
Vetogene	Milan, Italie	30 euros

1.6. Chez le Ragdoll

Chez le Ragdoll, des tests génétiques ont été développés afin de dépister la présence de la mutation MYBPC3-R820W, associée à la présence de la MCH chez les chats de la race (Meurs *et al.*, 2007b). Comme pour le test de dépistage de la mutation MYBPC3-A31P, ces tests sont disponibles dans de nombreux laboratoires. Les tarifs de ce test sont similaires au test de dépistage de la mutation MYBPC3-A31P.

Le test de dépistage de la mutation MYBPC3-R820W est disponible dans les laboratoires NCSU Veterinary Cardiac Genetics Laboratory (États-Unis), Texas A&M University (États-Unis), UC-Davis Veterinary Genetics Laboratory (États-Unis), Antagene (France), Genindexe (France), Genomia s.r.o (République Tchèque), Laboklin (Allemagne), Laboratorio Genefast (Italie), Langford Veterinary Services (Grande Bretagne), Progenus (Belgique), Van Haeringen (Pays-Bas) et Vetogene (Italie).

1.7. Pertinence et limites de ces tests

Les tests existant actuellement portent sur l'identification d'un seul gène associé à une maladie. Lors de cardiopathies d'origine polygénique, chaque gène impliqué contribue au développement de changements morphologiques ou biochimiques caractéristiques de la maladie avec des proportions différentes. Ces gènes sont donc très difficiles à identifier d'où la difficulté à développer des tests génétiques de dépistage. Le dépistage clinique, échocardiographique et électrocardiographique reste actuellement la méthode de référence lorsque les cardiopathies sont à transmission polygénique (Meurs, 2010a).

Lorsqu'une mutation causale a été mise en évidence dans une espèce et une/des race(s), pour une maladie donnée, il n'est pas possible d'affirmer que l'ensemble des chats malades sont porteurs de cette mutation. Il existe en effet très souvent plusieurs mutations différentes pouvant être à l'origine de la même maladie (hétérogénéité génétique). Dans ce cas également, le dépistage clinique, électrocardiographique et échocardiographique annuel reste très pertinent, notamment pour la race Maine Coon et la race Ragdoll. Des recommandations concernant les paramètres échocardiographiques à prendre en compte ont été données par

l'ACVIM *Cardiac Health Registry*, définissant ainsi les critères précis du diagnostic de MCH (Meurs, 2010a).

Par ailleurs, en raison de la pénétrance incomplète pouvant être importante pour une mutation donnée, tous les animaux possédant une mutation ne seront pas malades. La mutation MYBPC3-A31P est notamment considérée dans certaines publications comme un facteur de risque de déclarer la MCH, en raison de la faible pénétrance de la maladie (Lyons, 2010).

De plus si une association significative entre la mutation MYBPC3-A31P et le fait d'être atteint de MCH a été démontrée, il existe une faible proportion de chats de race Maine Coon portant le gène muté mais ne déclarant pas la maladie, ainsi que des Maine Coons atteints de MCH mais ne portant pas le gène muté. L'existence d'au moins une autre mutation à l'origine de la MCH chez le Maine Coon est donc très probable (Carlos Sampedrano *et al*, 2009 ; Wess *et al.*, 2010c).

Malgré l'existence d'un test pour mettre en évidence la mutation responsable de l'ARVC chez le Boxer, il n'a pas non plus été prouvé que cette mutation soit la seule responsable de la maladie (Meurs, 2010a).

Enfin il a été démontré chez l'homme que les facteurs environnementaux influent sur le mode d'expression d'une maladie d'origine héréditaire. Ces paramètres ont très peu été étudiés dans le cadre des myocardiopathies canines et félines, et pourraient en partie être à l'origine de la pénétrance incomplète d'une mutation, ou de l'expressivité variable d'une maladie.

2. Les stratégies d'élevage concernant les cardiopathies à déterminisme génétique

2.1 Généralités

La multiplication de la présence d'anomalies génétiques ségréguant au sein d'une race pose des problèmes éthiques et de bien-être animal. Il convient donc de mettre en place des stratégies d'élevage afin de réduire la prévalence de ces anomalies, tout en conservant les qualités et la diversité génétique des races actuelles.

Pratiques d'élevage, consanguinité, effet « reproducteur populaire » et diversité génétique

Les pratiques d'élevages existantes depuis des centaines d'années ont un impact prépondérant sur la structure génétique des races canines et félines. L'objectif est de sélectionner, au sein d'une race, des animaux possédant des caractéristiques morphologiques et comportementales relativement homogènes, répondant aux standards définis par les clubs de race. Pour pouvoir appartenir à une race, un animal doit respecter l'ensemble des critères définis par le club de race, et avoir l'ensemble de ses ancêtres enregistrés au livre des origines. Ces exigences font de chaque race une population fermée et phénotypiquement très homogène (Shearin et Ostrander, 2010).

Afin de respecter les exigences des clubs de race, les reproducteurs sont sélectionnés très strictement. Cette sélection est à l'origine d'un nombre limité de reproducteurs. Certains reproducteurs mâles possèdent ainsi une descendance de plus de 2500 individus (Leroy et Baumung, 2011). Les éleveurs des différentes races canines ont utilisé un nombre limité d'étalons et de lices. Ils ont sélectionné les reproducteurs de manière précise selon des caractères morphologiques et comportementaux, ont procédé à une sélection stricte de la descendance et ont usé de la consanguinité afin de fixer un caractère dans une race donnée.

La **consanguinité**, conséquence majeure de la diminution du nombre de reproducteurs, est un phénomène qui consiste à reproduire ensemble des animaux apparentés. Il est donc également important de connaître avec précision les origines généalogiques de chaque animal avant de le mettre à la reproduction. Certains éleveurs choisissent de faire reproduire ensemble des animaux apparentés, afin de « fixer » un caractère donné : les principes de génétique des populations (Bossé, 2013) ont montré que les croisements entre animaux apparentés favorisaient l'apparition de loci « autozygotes » (loci qui comportent deux allèles identiques par ascendance). Dans le cas de croisements consanguins, pour un locus donné possédant deux allèles différents, la fréquence d'homozygotes dans la descendance sera supérieure à ce que l'on peut attendre habituellement, et la fréquence d'hétérozygotes sera diminuée. Les fréquences alléliques ne seront pas modifiées à l'échelle de la population globale.

Les croisements entre animaux apparentés et entre animaux d'une même lignée vont entraîner une incidence plus marquée d'animaux atteints de maladies à hérédité autosomique récessive dont les allèles causaux ont été involontairement sélectionnés par les stratégies de reproduction (Tableau 14). La consanguinité favorise ainsi le développement d'autres anomalies génétiques (à transmission autosomique récessive), dont l'éradication n'est pas prise en compte dans le choix des reproducteurs. Cependant la dissémination de l'allèle responsable de la maladie sera diminuée (Leroy, 2011)

La consanguinité ne crée pas de nouvelles anomalies, mais elle augmente la fréquence des homozygotes atteints par la maladie : plus un allèle est rare, plus le risque d'apparition de la maladie causée par cet allèle augmente en cas de consanguinité (Bossé, 2013).

Parallèlement à la fixation des caractères souhaités, des caractères non désirés, et notamment des maladies héréditaires (causées par des allèles ségrégeant avec les allèles responsables des caractères désirés par les éleveurs), ont été fixés au sein de races ou de certaines lignées (Abitbol *et al.*, 2010).

L'existence de plus en plus de tests génétiques de dépistage entraîne en effet **l'augmentation de la pression de sélection** des reproducteurs. Ceci engendre la sélection d'un faible nombre de reproducteurs (mâles principalement) considérés comme « sains », c'est à dire homozygotes pour l'allèle sauvage. Cette sélection peut mener à l'exclusion de nombreux animaux pouvant être indemnes pour d'autres maladies génétiques pour lesquelles il n'existe actuellement aucun test, et pour lesquelles les reproducteurs sélectionnés pourraient être porteurs sains. Ces pratiques d'élevage auraient alors pour conséquence l'augmentation de la prévalence de maladies d'origine génétique pour lesquelles aucun test n'est actuellement disponible (Wade, 2011).

La seconde conséquence de la restriction du nombre d'étalons (et de lices) est un **appauvrissement marqué de la diversité génétique**, à la fois à l'échelle individuelle et à l'échelle de la population : une population possèdera moins d'allèles pour un locus donné. Dans une population pour laquelle le nombre de reproducteurs mâles diminuait de 267 à 38 animaux, il a été montré que le nombre d'homozygotes pour un locus donné après 25 générations était multiplié par cinq (Leroy et Baumung, 2011).

Le pourcentage de loci homozygotes au sein du génome d'un chien est en moyenne de 25 à 30 %. Ceci, témoigne des pratiques d'élevage, à l'origine d'une perte de diversité génétique. En fonction des races et des pratiques d'élevage appliquées dans chacune des races, le pourcentage d'homozygotie du génome peut varier de façon importante, allant de 7,5 % chez le Jack Russel Terrier, race très sujette à des croisements avec d'autres races, à 51 % en moyenne chez le chien de race Boxer (Bateson et Sargan, 2012). Lorsqu'une ou plusieurs

maladies d'origine génétique ségrégent au sein d'une race, une telle perte d'hétérozygotie entraîne un nombre important d'animaux porteurs homozygotes de l'allèle muté (atteints). Au contraire, pour toute race dans laquelle les pratiques d'élevage permettent d'obtenir une plus grande diversité génétique, la proportion d'animaux indemnes de la maladie sera plus importante en raison d'une proportion d'hétérozygotes plus importante : ce type de pratique permet d'améliorer la santé générale d'une race.

L'effet « reproducteur populaire » (sur-utilisation d'un champion en reproduction) va donc augmenter le risque de dissémination des allèles mutés, causer une dépression consanguine (réduction des performances d'une population donnée liée à la reproduction entre animaux apparentés) (Tableau 14).

La sélection des reproducteurs en vue d'éviter la transmission d'une maladie héréditaire doit par conséquent se faire méthodiquement et progressivement, en prenant en compte le génotype des reproducteurs pour le locus causal de la maladie, le mode de transmission, la gravité de la maladie, la pénétrance de la mutation causale et la taille de la population (Meurs, 2010a).

Certains éleveurs choisissent d'augmenter la diversité génétique de leurs lignées en faisant reproduire les animaux qu'ils possèdent avec un nombre très varié de reproducteurs. La diversité génétique de la race pourra également être augmentée lors de croisements inter-raciaux (Leroy, 2011). Dans ce cas, l'incidence du défaut diminue fortement et la dépression consanguine diminue (Tableau 14). Cependant, les animaux hétérozygotes étant plus difficiles à identifier, l'allèle se disséminera de façon plus importante sous sa forme hétérozygote (Leroy, 2011).

Tableau 14 : Effets des pratiques d'élevage sur l'évolution théorique de la diversité génétique et des paramètres liés à la santé des chiens de race (D'après Leroy, 2011).

	Technique d'élevage	Effet « reproducteur mâle populaire »	Croisements entre animaux apparentés	Croisements entre animaux éloignés et choix varié de reproducteurs	Croisements inter-raciaux
Diversité génétique	À l'échelle de la population (race)		Aucune influence	Aucune influence	
	À l'échelle d'un même individu				
Maladies d'origine génétique (à transmission autosomique récessive)	Dissémination du risque				
	Proportion d'animaux atteints par la maladie				
Dépression consanguine					

L'habitude d'élevage la plus délétère concernant la réduction de la diversité génétique et de transmission des défauts génétiques est donc celle du « reproducteur populaire ». Il serait par conséquent judicieux de limiter cet effet en imposant un nombre maximal de descendants par mâle au sein d'une même race. C'est ce que recommande actuellement la Fédération Cynologique Internationale, qui conseille, pour un mâle reproducteur d'une race donnée, de ne pas dépasser un nombre de descendants supérieur à 5 % du nombre total de chiots de cette race nés sur une période de cinq ans. Le nombre maximal de descendants doit être défini pour chaque race en fonction du nombre d'animaux enregistrés dans cette race, la diversité génétique de la population et l'historique démographique de la race (Leroy, 2011).

Maladie récessive, porteurs sains et conservation de la diversité génétique

La conduite à tenir lorsque l'on possède un test diagnostique/de dépistage pour une maladie héréditaire doit rester très pragmatique et prudente. Il convient d'éviter à tout prix la tendance à éliminer de la reproduction tout porteur sain de l'allèle responsable de la maladie et de ne reproduire que les homozygotes pour l'allèle « sauvage » dans le cas d'une maladie récessive. En effet, le pool de reproducteur au sein de la plupart des races canines et félines est relativement limité, ce qui engendre une faible variabilité génotypique et phénotypique. Écarter de la reproduction l'ensemble des animaux dits « à risque » entraînerait une réduction considérable du pool de reproducteurs d'une race spécifique, menant à une augmentation de la consanguinité (Meurs, 2010a). Même si cette stratégie permettrait d'éradiquer rapidement l'allèle à l'origine de la maladie, le risque de développer de nouvelles maladies héréditaires dont la cause est inconnue est élevé, plus particulièrement lorsque le pool de reproducteurs au sein de la race est relativement limité (Hedhammar *et al.*, 2011 ; Mellersh, 2012).

Une étude de modélisation réalisée en 2012 par Grégoire Leroy et ses collaborateurs, sur quatre races de chiens, a comparé plusieurs stratégies d'élevage vis-à-vis d'une maladie à transmission autosomique récessive pour laquelle un test génétique de dépistage est disponible.

- **Éradication d'une seule maladie autosomique récessive en limitant les accouplements pour différentes fréquences alléliques initiales :**
 - ***Retrait total du pool d'animaux reproducteurs des animaux atteints par la maladie (homozygotes mutés) mais maintien des hétérozygotes et de la descendance hétérozygote dans le pool de reproducteurs.*** Cette stratégie a permis de diminuer la fréquence de la mutation de moitié au maximum en 10 ans ;
 - ***Retrait des homozygotes mais maintien des hétérozygotes en retirant du pool de reproducteur leurs descendants porteurs hétérozygotes ou homozygotes de la mutation.*** Cette stratégie permet d'éradiquer la mutation en une dizaine d'années ;
 - ***Retrait de tout porteur de l'allèle muté, homozygote ou hétérozygote, du pool de reproducteurs.*** Cette stratégie a permis d'éradiquer encore plus rapidement la mutation, mais c'est la stratégie entraînant le plus fort taux de consanguinité. Elle doit donc être évitée dans des races à petit effectif, surtout si la prévalence de la mutation est importante.

Pour ces trois stratégies, plus la fréquence allélique initiale de la mutation est importante, plus le pool de reproducteurs diminue rapidement et le risque de consanguinité est alors important. De plus, comme le taux d'apparition de nouveaux défauts génétiques est proportionnel au taux de consanguinité, il est important de favoriser un faible taux de consanguinité et une diversité génétique élevée.

- **Limitation de la descendance pour chaque reproducteur au sein d'une race** : plus le nombre de descendants produits par reproducteur est petit, moins le taux de parenté est élevé. Cette stratégie a un impact positif sur la diversité génétique.

Cette étude a également montré que la stratégie à adopter dépendait de la prévalence de l'allèle muté dans la race.

La présence d'homozygotes en grande proportion permet de mettre en évidence, par l'étude des pedigrees, les animaux porteurs (hétérozygotes) au sein d'une population, et de les retirer de la reproduction. En effet, lorsque l'on met à la reproduction des hétérozygotes, pour lesquels il n'est pas possible de détecter cliniquement la maladie génétique, le risque de dissémination de la maladie est plus important, notamment dans le cas de mâles reproducteurs réalisant de nombreuses saillies (Leroy, 2011).

Maladie dominante, prise en compte de la pénétrance

Dans le cas d'allèles dominants à pénétrance complète ou quasiment complète, il est logique de retirer de la reproduction tout porteur de l'allèle muté (Mellersh, 2012).

Il est cependant très important de prendre en compte la pénétrance incomplète et l'expressivité variable d'un ou de plusieurs allèle(s) dans le conseil en élevage. Tous les animaux porteurs d'une mutation à pénétrance incomplète ou descendant de parents affectés par la maladie ne déclareront en effet pas forcément la maladie, ou ne seront pas atteints avec la même gravité (expressivité variable). Il existe un risque plus important que la maladie se développe lorsque l'animal possède la mutation, mais il n'est pas certain qu'elle se développe (Meurs, 2010a). Si la pénétrance de la maladie est faible, il faut dans ce cas utiliser le résultat du test avec prudence car tous les animaux porteurs de l'allèle muté ne déclareront pas la maladie. L'allèle muté est alors un facteur de risque de déclencher la maladie, mais ne devra en aucun cas être considéré comme un élément diagnostique unique de la maladie (Mellersh, 2012).

Recommandations générales

- Maladies autosomiques récessives

Dans le cas des maladies autosomiques récessives pour lesquelles un test de dépistage ADN est disponible, il est recommandé de croiser des hétérozygotes pour l'allèle causant la maladie avec des animaux non porteurs de cet allèle anormal, plutôt que de tenter à tout prix d'éliminer rapidement tout porteur de cet allèle. Cela permet ainsi de limiter l'augmentation de fréquence de l'allèle anormal, tout en préservant la diversité génétique au sein de la race ou de la lignée, sans produire d'animaux atteints (Wade, 2011). Lorsqu'il est mis à la reproduction, il faut remplacer le reproducteur hétérozygote par un animal appartenant à sa descendance et testé homozygote pour l'allèle sauvage (en première ou Xième génération, dès qu'un descendant de qualité et homozygote normal aura été identifié). Cette stratégie permet de conserver les qualités du reproducteur, en s'affranchissant de l'allèle muté (Bell, 2010).

Dans le cas d'une maladie à mode de transmission autosomique récessif pour laquelle aucun test génétique n'a été développé, il est important pour l'éleveur d'évaluer le risque qu'un de ses reproducteurs soit porteur asymptomatique d'un allèle muté. Il faut alors étudier avec attention les pedigrees des reproducteurs. S'il existe des animaux atteints dans la lignée, il est nécessaire de croiser le reproducteur avec un autre animal appartenant à une lignée dans laquelle aucun malade n'a été enregistré. La définition d'un indice évaluant le

risque d'être porteur de l'allèle muté, appliqué à chacun des reproducteurs d'une race est fondamentale et relève de la responsabilité des clubs de race (Bell, 2010).

La présence de porteurs sains de la mutation est impossible à détecter sans un test ADN. Il est alors uniquement possible de déterminer le statut hétérozygote d'un chien lorsqu'il a produit un chiot atteint. Le développement d'un test ADN de dépistage est donc indispensable pour faire baisser de façon significative la fréquence d'une maladie récessive et donc de l'allèle causal.

- Maladies autosomiques dominantes

Pour les **maladies autosomiques dominantes à pénétrance complète** il est recommandé de ne pas mettre à la reproduction les animaux hétérozygotes (et homozygotes mutés), ce qui revient à exclure de la reproduction l'ensemble des animaux porteurs de la mutation (ayant ou non encore exprimé des symptômes de la maladie si elle est d'expression tardive).

Les maladies **dominantes à pénétrance incomplète** s'avèrent plus complexes à gérer en particulier lorsqu'aucun test génétique n'est disponible. Il est nécessaire d'évaluer le risque que l'animal que l'on souhaite faire reproduire soit porteur de l'allèle muté, en évaluant son pedigree (Bell, 2010). Dans le cas où la maladie est à pénétrance incomplète mais qu'il existe **un test ADN** de dépistage, et en particulier si les symptômes de la maladie sont peu handicapants pour l'animal et la fréquence de la mutation causale élevée dans la race, il est possible d'utiliser des reproducteurs hétérozygotes. Le choix de l'utilisation de ceux-ci dépend de leur potentiel améliorateur pour la race, sachant qu'il existe un risque de produire des descendants atteints. Ce type de stratégie d'élevage est à évaluer au cas par cas, en fonction de la race, de son effectif, de la fréquence de la mutation, de la pénétrance et de la symptomatologie de la maladie.

- Maladies récessives liées à l'X

Dans le cas des **maladies récessives liée à l'X**, il faut éviter de reproduire les femelles porteuses saines (hétérozygotes au test ADN), les femelles atteintes par la maladie (homozygotes mutées au test ADN ou exprimant les symptômes de la maladie), ou les femelles à haut risque d'être hétérozygotes (dans le cas d'une maladie sans test ADN de dépistage). Le risque de transmettre l'allèle à la descendance mâle (qui serait par conséquent automatiquement atteinte par la maladie) est en effet élevé, car un mâle atteint reçoit obligatoirement l'allèle muté de sa mère. Si un mâle atteint est mis à la reproduction, toutes ses descendantes femelles seront porteuses saines de l'allèle muté mais aucun de ses descendants mâles ne sera porteur. Le croisement d'un mâle atteint par la maladie avec une femelle saine permet d'obtenir une descendance mâle non porteuse de l'allèle muté, mais possédant les qualités du mâle parent. Il est nécessaire de remplacer, dans le pool de reproducteurs, le mâle atteint par un fils de sa descendance ne possédant pas l'allèle muté mais possédant toutes les qualités génétiques que l'on souhaite conserver. Cela permet, entre autres, de maintenir la diversité génétique au sein de la lignée. Les femelles nées de cette génération ne doivent en revanche pas être mises à la reproduction, en raison du risque de transmission de l'allèle muté (en moyenne de 50 %) à leur descendance (Bell, 2010).

- Maladies polygéniques

Même si le ou les gènes causaux pour la maladie n'ont pas encore été identifiés pour l'ensemble des maladies, la connaissance du mode de transmission de la maladie est une aide

précieuse pour le conseil en élevage (Meurs, 2010a). La difficulté du contrôle d'une maladie dépend également de sa nature mono- ou polygénique. À l'heure actuelle, il n'existe pas de test génétique permettant de mettre en évidence les porteurs sains d'allèles responsables d'une maladie polygénique. Afin d'éviter la transmission d'une maladie à hérédité polygénique, il est nécessaire d'étudier de manière approfondie les pedigrees de chacun des animaux que l'on souhaite faire reproduire ensemble. Un animal dont les frères et sœurs, les parents, les frères et sœurs des parents, les grands-parents, et la descendance sont exempts de la maladie aura peu de chances d'être porteur sain. Tout animal malade doit être remplacé dans le pool de reproducteurs par un animal de la même famille exempt de la maladie, qui doit être uniquement croisé avec des animaux à faible risque d'être porteurs. Sur un total d'environ 600 maladies héréditaires mises en évidence chez le chien, il a été démontré que plus d'une centaine sont d'origine monogénique, mais la majorité des maladies héréditaires sont d'origine polygénique (Hedhammar *et al.*, 2011 ; OMIA, 2014)

2.2 Recommandations spécifiques de race pour les myocardiopathies

2.2.1. Le Maine Coon et le Ragdoll

Les études de pedigrees portant sur l'étude de la MCH chez le Maine Coon et le Ragdoll ont mis en évidence un mode de transmission très probablement de type autosomique dominant à pénétrance incomplète et expressivité variable.

De plus, les diverses études menées aux États-Unis et en Europe ont évalué la prévalence de la mutation A31P du Maine Coon entre 30 % et 40 % (Fries *et al.*, 2008 ; Meurs 2010a ; Mary *et al.*, 2010). La prévalence de la mutation R820W chez le Ragdoll a été évaluée entre 15 et 30 % (Borgeat *et al.*, 2014). Il est évident que le retrait de 15 à 40 % des reproducteurs potentiels du pool de reproducteurs pourrait augmenter fortement la prévalence d'autres maladies génétique dans ces deux races.

Des recommandations pour les races Maine Coon et Ragdoll peuvent être éditées, en tenant compte de la fréquence élevée des mutations et de leur pénétrance incomplète.

- La conduite à tenir consiste à **retirer de la reproduction les homozygotes** pour la mutation.
- Il est également nécessaire d'évaluer **chez les jeunes animaux (12-18 mois) et régulièrement (une fois par an si possible, et jusqu'à un âge avancé) par échocardiographie** la présence ou non de signes d'hypertrophie du myocarde chez tous les reproducteurs.
- Il est nécessaire de **retirer de la reproduction les chats présentant une hypertrophie** du myocarde.
- Un chat hétérozygote ne présentant pas d'hypertrophie du myocarde est un chat pour lequel la pénétrance de la maladie est certainement faible (surtout s'il est âgé, la pénétrance augmentant avec l'âge). Si ce chat est par ailleurs très améliorateur pour la race, il pourra être conservé pour la reproduction afin de produire une portée. Un animal hétérozygote a 50 % de risque de transmettre la mutation et 50 % de chances de ne pas la transmettre à sa descendance. Il sera donc nécessaire de génotyper l'ensemble de la portée et de sélectionner les chats non porteurs de la mutation, qui seront les seuls animaux mis à la reproduction par la suite. L'objectif est alors de diminuer la prévalence de la maladie au fil des générations, sans altérer la qualité du potentiel génétique de la race (Meurs, 2010a ; LOOF 2012).

De plus comme les Maine Coons atteints de MCH ne sont pas tous porteurs de la mutation MYBPC3-A31P, **le test ADN de cette mutation ne peut pas se substituer au diagnostic clinique et échocardiographique** car il existe très probablement d'autres mutations à l'origine de la MCH chez le chat de race Maine Coon. Il convient donc de retirer également de la reproduction tout chat de race Maine Coon ayant des signes échocardiographiques de MCH, même s'il n'est pas porteur de la mutation MYBPC3-A31P.

Chez le Ragdoll, la mutation MYBPC3-R820W s'exprime probablement selon un mode semi-dominant à pénétrance incomplète. Cette caractéristique est importante à prendre en compte pour l'élevage de chats Ragdoll, afin de ne pas diminuer le pool de reproducteurs potentiels en retirant de l'élevage tout animal porteur. La principale recommandation est d'éviter de reproduire entre eux deux chats Ragdoll hétérozygotes afin d'éviter d'obtenir des descendants homozygotes. Cette stratégie réduit par conséquent la sévérité de la maladie et la fréquence d'expression des MCH chez le Ragdoll (Meurs, 2010a). L'utilisation d'un reproducteur hétérozygote sera cependant à évaluer en fonction de ses qualités et de son utilité pour l'amélioration de la race, ce reproducteur pouvant produire des descendants malades.

2.2.2. Le Boxer

Dans le cadre du dépistage de l'ARVC du Boxer, il sera important d'associer le test génétique (principalement pour les lignées américaines de Boxers) et les examens complémentaires cardiologiques, car la prévalence de la mutation et la valeur de la pénétrance ne sont pas encore connues. Par ailleurs, il est fortement probable que d'autres mutations soient également à l'origine de cette maladie. L'examen de type Holter permet donc, dans une famille atteinte par l'ARVC, de tester les potentiels reproducteurs (Meurs, 2004).

Il est conseillé de **retirer de la reproduction tout Boxer atteint d'ARVC**. Il est important de dépister les reproducteurs annuellement afin de détecter les animaux déclarant la maladie plus tardivement.

Il est nécessaire d'interpréter avec prudence un résultat positif pour la mutation du gène *STRN* chez un Boxer. En effet, il a été suggéré que le retrait systématique de la reproduction des Boxers porteurs de la mutations pourrait avoir des conséquences néfastes pour la race car 40 % d'entre eux seraient porteurs de la dite mutation (NCSU, 2014a).

Le mode de transmission étant autosomique dominant, le Dr Meurs conseille, comme pour le Maine Coon, de retirer de la reproduction les homozygotes mais de maintenir à la reproduction les animaux hétérozygotes pour la mutation, en surveillant l'apparition des signes électrocardiographiques d'ARVC chez ces reproducteurs. Il faut tester la descendance des chiens hétérozygotes. Si les descendants ne sont pas porteurs de la mutation, ils peuvent remplacer leurs parents porteurs en tant que nouveaux reproducteurs (Meurs, 2010a).

2.2.3. Le Doberman et le Terre-Neuve

Dobermans américains

La MCD chez le Doberman étant une affection autosomique dominante, il est **déconseillé de mettre à la reproduction les animaux homozygotes pour la mutation du gène *PDK4* (lignées américaines de Dobermans) et les animaux atteints (signes échocardiographiques voire cliniques de MCD)**.

En raison de la très forte prévalence de la MCD chez le Doberman, il est recommandé de réaliser un dépistage annuel de la MCD par examen échocardiographique et Holter, à partir de l'âge de deux ans (*et al.*, 2010a).

Comme pour le Boxer, il est possible de mettre à la reproduction un animal hétérozygote *PDK4* mais ne présentant pas les signes cliniques de la maladie en le croisant avec des homozygotes pour l'allèle sauvage, et en assurant régulièrement un suivi clinique et échocardiographique du reproducteur. Dès que ce reproducteur aura produit une descendance homozygote pour l'allèle sauvage et indemne de signe échocardiographique de MCD, il conviendra de le remplacer par des animaux appartenant à sa descendance.

Dobermans européens

En raison de la très forte prévalence de la MCD chez le Doberman, il est également recommandé de réaliser un dépistage annuel de la MCD par examen échocardiographique et Holter, à partir de l'âge de deux ans (Wess *et al.*, 2010a). Dans le cadre de l'élevage des lignées européennes de Dobermans, pour lesquelles **aucun test génétique** n'est disponible, l'examen clinique, échocardiographique et Holter doit être le plus régulier possible et **tout animal présentant des signes échocardiographiques ou cliniques de MCD sera automatiquement retiré de la reproduction**. De plus, tout animal appartenant à une famille dans laquelle ségrègue la MCD doit être uniquement croisé avec des animaux appartenant à des familles exemptes de MCD.

Terre-Neuve

Les mêmes recommandations s'appliquent au cas de l'élevage du Terre-Neuve, race pour laquelle des **contrôles annuels cliniques, échocardiographiques, et électrocardiographiques** sont conseillés lors de la mise à la reproduction (Meurs, 2010a).

2.2.4. Le Dogue Allemand

Le **mode de transmission de la MCD du Dogue Allemand n'a pas encore été élucidé** de façon certaine. Dans les lignées américaines la maladie semble se transmettre sur le mode récessif lié à l'X (Meurs *et al.*, 2001) alors que dans les lignées européennes (étude britannique) la MCD semble se transmettre sur le mode autosomique dominant (Stephenson *et al.*, 2012). Le conseil génétique sera donc différent pour les deux types de lignées de chiens.

Si le mode de transmission est effectivement lié à l'X chez les chiens américains, il faut prendre en compte les principes suivants, lors de la mise à la reproduction :

- Les femelles issues de mâles atteints par la MCD sont toutes porteuses asymptomatiques hétérozygotes de la mutation, car elles portent le chromosome X hérité de leur géniteur.
- Les mâles issus de mâles atteints ne sont pas censés développer de MCD, car ils ne reçoivent aucun chromosome X de la part de leur géniteur (Meurs, 2010a).

Lors de la mise à la reproduction d'un mâle atteint par la MCD, il convient donc d'écarter les femelles issues de ce mâle. Les mâles issus de ce mâle atteint pourront néanmoins être mis à la reproduction. Il est très fortement conseillé de retirer de la reproduction une femelle ayant produit un mâle atteint ou issue d'un mâle atteint.

Si le mode de transmission est autosomique dominant dans les lignées européennes, les recommandations pour l'élevage et le dépistage de la maladie seront identiques à celles des Terre-Neuve ou des Dobermans européens.

2.2.5. Le Lévrier Irlandais

Le mode de transmission de la MCD du Lévrier Irlandais est très probablement polygénique. Il s'agit donc d'une maladie très difficile à éradiquer. Il convient cependant de dépister par échocardiographie tous les reproducteurs, régulièrement, et d'écarter de la reproduction tous les chiens atteints (signes cliniques et/ou échocardiographiques de MCD).

2.2.6. Le chien d'Eau Portugais

Dans le cas de la MCD du chien d'Eau Portugais, maladie à transmission autosomique récessive, il faut qu'un animal soit porteur de deux allèles mutés pour être atteint par la maladie.

Le test ADN indirect existant pour la MCD du chien d'Eau Portugais est un outil précieux de dépistage mais, du fait des recombinaisons possibles entre les marqueurs génotypés et le locus causal, ce test n'est pas fiable à 100 %. L'identification de la mutation et la commercialisation d'un test ADN direct permettront à terme de simplifier les prises de décisions concernant la mise à la reproduction des chiens de cette race.

Les recommandations d'élevage concernant la MCD du chien d'eau Portugais sont de :

- Dépister tous les reproducteurs avec le test ADN actuellement disponible ;
- Écarter des programmes de reproduction les animaux supposés homozygotes mutés (la maladie se déclarant très précocement dans cette race, les homozygotes mutés ont très peu de chance de se reproduire) ;
- Ne jamais croiser deux chiens supposés hétérozygotes.

Les hétérozygotes peuvent être mis à la reproduction, mais ils devront impérativement être croisés avec des homozygotes sains. Tous les chiots issus de ces croisements devront être testés génétiquement afin de déterminer leur statut (homozygote sain ou hétérozygote).

2.3. Conseil en élevage et clubs de races

Les protocoles de dépistage clinique et génétique des reproducteurs sont essentiels pour maintenir des races à fort pool de reproducteur tout en ayant une prévalence de maladies d'origine génétique la plus faible possible.

Les clubs de race jouent un rôle fondamental dans la mise en place et la réalisation de ces plans de dépistage, ainsi que dans la certification des reproducteurs. Le suivi statistique des résultats des tests permet également d'évaluer la réussite des stratégies d'élevage visant à diminuer la prévalence des maladies d'origine génétique.

La détection d'un allèle muté ou le diagnostic d'une maladie génétique chez un reproducteur ayant déjà une descendance permet également de retirer de la reproduction sa descendance à risque, afin d'éviter la dissémination de l'allèle muté et de la maladie.

Il est important que les éleveurs aient des connaissances précises sur les maladies prédominantes dans la race qu'ils élèvent, et sur les protocoles de dépistage et de sélection des reproducteurs disponibles (Sampson, 2011).

Sur le plan international, la FCI (Fédération Cynologique Internationale) décrit la lutte pour la santé « génétique » des animaux comme un de ses objectifs principaux. Elle préconise pour cela d'éviter les campagnes drastiques d'éradication de certaines maladies génétiques car ces campagnes pourraient conduire à une diminution majeure du pool de reproducteurs et à l'apparition de nouvelles maladies génétiques (Hedhammar et Indrebo, 2011).

Même si les actions de la FCI sont en majorité ciblées sur le contrôle des dysplasies du coude et de la hanche chez le chien, les recommandations réalisées dans le cadre du Règlement de la FCI concernent l'ensemble des maladies d'origine génétique, y compris les myocardiopathies.

Selon le Code d'Ethique de l'Élevage de la FCI, l'objectif de l'élevage est « *de préserver voire d'étendre la diversité génétique d'une race [...] Seuls des chiens sains cliniquement (ne souffrant d'aucune maladie ou déficience), présentant la conformation normale de la race sont autorisés à la reproduction [...] dans le cas où des chiens mis à la reproduction présentent un lien familial avec un ou des animaux malades, il faudra prendre la précaution de ne les croiser qu'avec des animaux appartenant à des lignées exemptes de la maladie concernée, et dans le cas où des tests génétiques concernant la maladie existent, il faudra les appliquer à ces animaux reproducteurs et à leur descendance. Il est nécessaire d'éviter absolument les croisements entre animaux apparentés afin de préserver voire développer la diversité génétique de la race. En général, aucun chien ne doit posséder une descendance dont le nombre d'individus excède 5 % du nombre total de chiots de la race enregistrés sur une période de cinq ans, au niveau international. Les résultats des tests phénotypiques et génétiques devront être rendus publics dans des registres, et utilisés afin de faciliter la sélection et la combinaison judicieuse des reproducteurs au sein d'une même race (notamment dans le cas de reproducteurs hétérozygotes pour une maladie), et d'éviter de mettre à la reproduction des chiens malades* » (FCI, 2010; FCI, 2014).

Il existe des clubs de race depuis le 19^e siècle. Ces associations enregistrent les animaux ayant été approuvés comme pouvant être assimilés à une race donnée, ainsi que les saillies et naissances au sein de la race. Ces bases de données sont un outil fondamental pour l'étude de l'origine génétique d'une maladie, la gestion du pool de reproducteurs et la limitation de la transmission de affections héréditaires (Leroy, 2011).

Les tendances actuelles ayant pour objectif de « débarrasser » les races canines et félines de tout défaut d'origine génétique ont de nombreux effets négatifs en entraînant une perte de diversité génétique au sein des races et le développement de nouvelles anomalies d'origine génétique par la sélection de nouvelles mutations préexistantes (Wade, 2011).

On remarque actuellement de plus en plus de lignées se distinguant les unes des autres au sein d'une même race, sélectionnées par une morphologie particulière, une couleur de pelage particulière. Il existe par exemple chez le Labrador une divergence entre les lignées dites « de travail » et les lignées sélectionnées pour leurs qualités esthétiques. Ces divergences ont pour conséquence une diminution de la variabilité intra-raciale des caractères, puisque les pools de reproducteurs sont séparés et que peu de croisements ont lieu entre les lignées qui ont divergé (Wade *et al.*, 2011).

Lorsqu'une population se divise en plusieurs lignées, certains allèles vont être conservés au sein d'une même lignée tandis que d'autres allèles vont disparaître, en raison de leur fréquence initiale dans la population et de la dérive génétique (phénomènes aléatoires de sélection de certains allèles). Ce phénomène s'accroît dans les lignées comprenant peu d'animaux. Néanmoins, à l'échelle de la population, les fréquences de chaque allèle resteront les mêmes. Cela a des conséquences sur la gestion des races canines : la perte des allèles dépend notamment du pourcentage d'animaux reproducteurs au sein de la population.

La lutte contre la perte de diversité génétique au sein d'une race passe donc par la promotion du mélange entre lignées canines et une gestion raisonnée de la sélection des reproducteurs (Leroy, 2011; Wade *et al.*, 2011).

Cinquième partie :

Le chien, un excellent modèle pour l'étude des myocardiopathies héréditaires humaines ?

Les nouvelles techniques d'études du génome ont permis d'avancer à grands pas dans la connaissance des génomes des carnivores domestiques et de leur évolution. Les génomes des carnivores domestiques, et en particulier celui du chien sont devenus d'excellents modèles pour l'étude de l'évolution des génomes individuels au sein d'une population et des liens complexes entre génotype et phénotype (Wayne et Ostrander, 2007).

Le chien et le chat sont d'excellents modèles pour l'étude du déterminisme génétique des myocardiopathies humaines, et également pour l'évaluation de l'efficacité des nouvelles thérapeutiques se basant sur les principes des thérapies cellulaire et génique.

1. Un modèle pour l'identification de nouveaux loci chez l'homme

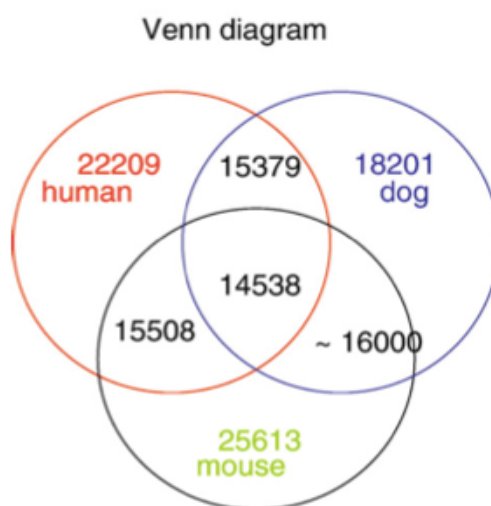
1.1. Le génome du chien

Structure des races canines

Le chien représente un excellent modèle pour l'étude des maladies humaines, car il partage un nombre plus important de maladies en commun avec l'espèce humaine que toute autre espèce domestique ou de laboratoire.

Des études de comparaison entre l'espèce humaine et l'espèce canine ont montré l'existence d'un nombre important de gènes en commun (Figure 64) : l'espèce humaine et l'espèce canine partagent 15379 gènes (sur 22209 au total pour l'espèce humaine et 18201 au total pour l'espèce canine) (Galibert et André, 2008).

Figure 64 : Diagramme montrant le nombre de gènes en commun chez le chien, la souris et l'homme, et le nombre total de gènes pour chaque espèce (Galibert et André, 2008).



De plus, la spécificité de l'espèce canine est sa ségrégation en races, suite à la domestication par l'homme, ce qui facilite l'étude d'associations génotype-phénotype. La sélection opérée par l'homme au fil des siècles pour fixer un ou plusieurs caractères particuliers au sein d'une race a entraîné la sélection de caractères indésirables que sont les maladies d'origine génétique (Lequarré *et al.*, 2011).

L'espèce canine est représentée par environ 350 races dans le monde, caractérisées par une variabilité génotypique et phénotypique très faible au sein des animaux d'une même race (Sutter et Ostrander, 2004). Les activités de sélection ont en effet entraîné une diminution de la variabilité génétique au sein d'une même race, et une augmentation de cette variabilité entre les différentes races. La variabilité entre les races est de 27 % chez le chien, alors qu'elle n'est que de 5 à 10 % entre différentes populations humaines (Parker *et al.*, 2004).

De par cette forte variabilité existant entre chaque race canine et l'homogénéité qui caractérise chacune d'entre elles, les races canines sont considérées comme des isolats génétiques, au sein desquelles la variabilité génétique est réduite (Abitbol *et al.*, 2010). Chaque race présente des caractéristiques spécifiques bien définies, et toutes les races canines sont génétiquement distinctes. Il existe notamment dans chaque race canine des maladies

spécifiques qui ségrégent préférentiellement dans cette race, de façon familiale (Lyons, 2010). Par ailleurs, lorsque certaines maladies d'origine génétique sont partagées par plusieurs races, il est intéressant d'effectuer des études de type GWAS qui s'avèrent très puissantes (voir paragraphe suivant), afin de mettre en évidence le locus en commun ayant ségrégué avec le phénotype de la maladie dans chacune de ces races (Pollinger *et al.*, 2005 ; Wayne et Ostrander 2007).

De plus, il est relativement aisé de se procurer le pedigree complet d'une lignée, ce qui permet d'évaluer rapidement les modes de transmission des maladies d'origine génétique. Les familles comportent par ailleurs plus de membres dans l'espèce canine, par rapport aux familles humaines. Ceci permet donc d'obtenir une puissance statistique supérieure lors de l'analyse des données génétiques et des pedigrees (Starkey *et al.*, 2005)

En outre, le temps de génération étant plus court, il est possible d'avoir accès à plusieurs générations canines à la fois, et donc de prélever plusieurs générations en même temps. La maladie évolue sur une période de temps plus courte, ce qui facilite les études (Dukes-McEwans *et al.*, 2003).

Cependant, il ne faut pas négliger le fait que l'espèce canine a tout de même un temps de génération plus long que d'autres animaux de laboratoire comme les rongeurs, ce qui rend plus coûteuses les études sur cette espèce (Pollinger *et al.*, 2005).

Recherche de mutations causales

Les recherches approfondies de laboratoire visant à déterminer l'origine génétique d'une maladie se sont avérées beaucoup plus aisées depuis le séquençage entier du génome d'un chien en 2005 (Lindblad-Toh *et al.*, 2005 ; Collins *et al.*, 2011). Des études ont évalué le déséquilibre de liaison qui s'est montré très important chez le chien, s'étendant jusque 2 Mb (contre 0,28 Mb chez l'Homme). Cela réduit donc le nombre théorique de SNP nécessaires pour faire une étude complète pangénomique de type GWAS à 10 000-30 000 SNP (contre 500 000 nécessaires chez l'Homme).

De plus, il existe une très faible diversité haplotypique au sein d'une même race (Sutter *et al.*, 2004). Ceci signifie que de larges régions chromosomiques sont conservées entre les chiens d'une même race. Il devient ainsi aisé d'identifier l'une de ces régions qui entourerait une mutation responsable d'une maladie héréditaire, puisqu'elle a de grandes chances d'être de grande taille et partagée entre tous les chiens malades. Plus de 2,1 millions de SNP présentant des taux de polymorphisme élevés ont été identifiés chez le chien, ce qui en fait donc un modèle idéal pour cartographier les gènes à l'origine de maladies complexes, à l'aide de la technologie des puces à ADN (Ostrander et Wayne, 2005).

La découverte chez le chien de gènes dont une mutation est à l'origine d'une maladie à la fois chez le chien et l'homme permet de faire des progrès dans le domaine de la santé canine mais aussi dans le domaine de la santé humaine (identification de mutations chez l'homme, développement de thérapies (conventionnelles, cellulaire ou génétique) (Abitbol *et al.*, 2010).

Dans de nombreux cas, l'origine génétique des myocardiopathies chez l'homme a été mise en évidence par l'étude directe du génome humain. Dans ces cas, et lorsqu'une origine génétique identique est mise en évidence chez le chien, celui-ci s'avère tout de même un excellent modèle pour étudier la pathogenèse de la maladie, et les options thérapeutiques applicables chez l'homme (Basso *et al.*, 2004).

1.2. Le chat

Dans le cadre de la MCH chez le chat, il a été prouvé que plusieurs types de mutations du gène *MYBPC3* sont également à l'origine de MCH chez l'Homme (Keren *et al.*, 2008).

Un cas clinique publié dans le journal « International Journal of Cardiology » en 2010 a rapporté la découverte chez un patient humain, dans une famille atteinte de MCH, de la mutation de type R820W du gène *MYBPC3*. Cette mutation, identifiée pour la première fois chez l'homme, était identique à la mutation responsable de la MCH chez le chat de race Ragdoll (Ripoll Vera *et al.*, 2010). Le patient était à la fois atteint d'hypertrophie myocardique et d'un défaut de compliance du ventricule gauche. Il était homozygote pour la mutation *MYBPC3*-R820W. Des tests génétiques pour cette mutation ont été effectués au sein de la famille de ce patient : les homozygotes pour la mutation souffraient tous de MCH, et les hétérozygotes étaient tous asymptomatiques. L'étude du pedigree était en faveur d'un mode de transmission autosomique récessif (Ripoll Vera *et al.*, 2010).

L'espèce féline est donc également un excellent modèle d'étude de l'origine génétique, de la pathophysiologie et des options thérapeutiques pour la MCH chez l'homme, en raison de l'existence de mutations identiques à l'origine de la MCH chez le chat et chez l'homme. Les connaissances sur la physiopathologie de la MCH chez le Ragdoll présentant la mutation *MYBPC3*-R820W ont permis de mieux appréhender la physiopathologie de cette maladie chez l'homme (Ripoll Vera *et al.*, 2010).

Le Maine Coon et le Ragdoll sont par conséquent d'excellents modèles pour l'étude de la MCH chez l'homme. Deux mutations différentes sur un même gène, chez deux races très éloignées phylogénétiquement, sont en effet à l'origine d'une même symptomatologie, et sont toutes les deux retrouvées chez l'homme. Cela témoigne de la diversité allélique observée dans le cadre des maladies humaines (Meurs *et al.*, 2007b).

2. Un modèle pour les thérapies géniques chez l'homme

2.1. Principe de la thérapie génique

2.1.1. Objectifs

La thérapie génique est une option thérapeutique disponible en médecine humaine depuis le début des années 1980. L'objectif de la thérapie génique est de guérir ou prévenir des maladies grâce à l'ADN. Elle consiste soit à transférer à un individu malade un gène codant la protéine qui fait défaut afin d'obtenir une expression de cette protéine sur une longue durée, dans un organe ou un tissu donné ; soit à corriger le défaut moléculaire à l'origine d'une maladie héréditaire ; soit à empêcher l'expression d'un allèle délétère. Cette technique nécessite de connaître la mutation à l'origine de la maladie. Cette approche a été utilisée avec efficacité chez le chien afin de traiter l'hémophilie, des maladies lysosomiales ou des maladies rétinienne d'origine génétique.

Cette technique s'applique également à des maladies d'origine génétiques dont le gène causal est inconnu ou à des maladies acquises, dans le but d'augmenter la production d'une protéine à effets thérapeutiques (Sleeper, 2010).

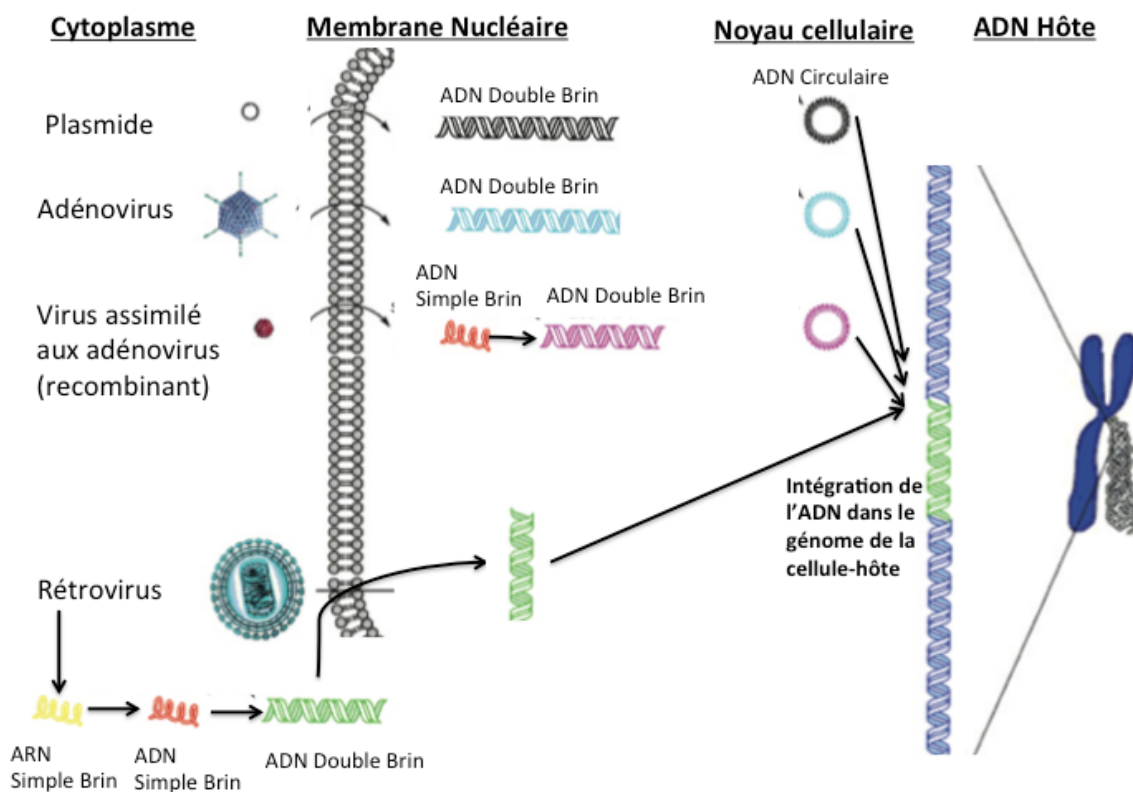
2.1.2. Description de la technique

Cette technique repose soit sur l'injection directe d'ADN soit sur la délivrance d'un ADN par un vecteur à des cellules. Le vecteur peut en particulier être un virus (Figure 65).

Figure 65 : Principe de la thérapie génique à l'aide de différents types de vecteurs viraux (d'après Lyons *et al.*, 2008).

ADN : acide désoxyribo-nucléique ; ARN : acide ribo-nucléique.

Les plasmides et les adénovirus libèrent de l'ADN double brin dans la cellule hôte. Cet ADN entre dans le noyau cellulaire sous forme d'ADN circulaire et est intégré au génome de la cellule-hôte. Les virus assimilés aux adénovirus libèrent dans la cellule de l'ADN simple brin, qui est converti en ADN double brin dans la cellule-hôte, avant d'être transféré au noyau sous forme d'ADN circulaire et intégré au génome de la cellule-hôte. Enfin, les rétrovirus libèrent de l'ARN, qui est converti en ADN simple brin grâce à une reverse-transcriptase, puis en ADN double brin avant d'être intégré à la cellule-hôte. Cet ADN double brin est alors directement intégré au génome de la cellule-hôte.



La plupart du temps, des virus sont utilisés comme vecteurs : leur capacité à se lier à une cellule hôte et à inclure leur génome dans le génome de la cellule hôte permet un excellent transfert du gène d'intérêt thérapeutique. Au sein du virus, le gène d'intérêt a été incorporé à la place des gènes codant les protéines à l'origine de la maladie causée par le virus.

Différents types de vecteurs viraux sont utilisables : des rétrovirus, des adénovirus et des virus associés aux adénovirus (AAV).

Des vecteurs non viraux peuvent également être utilisés. Chaque vecteur présente des avantages et des défauts et le choix du vecteur dépend en particulier des objectifs thérapeutiques, du tissu ciblé et de la taille de l'ADN à transférer (Tableau 15).

Tableau 15 : Différents vecteurs utilisables en thérapie génique (Abitbol, 2013).

Type de vecteur	Technique vectorielle	Commentaires
Vecteurs non viraux	Injection directe d'ADN	- Peu efficace - L'ADN se retrouve dans le cytoplasme
	Liposome	- Forme une bicouche lipidique où l'ADN est piégé ou lié - L'ADN se retrouve dans le cytoplasme
	Bombardement de microbilles	- ADN se retrouve fréquemment dans le cytoplasme
	Couplage gène-transferrine	- Le couple gène-transferrine est reconnu par les récepteurs de la transferrine qui se trouvent sur un certain nombre de cellules - L'ADN se retrouve dans le cytoplasme
Vecteurs viraux	Rétrovirus	- Intègrent leur patrimoine génétique dans l'ADN hôte - Modification stable - N'affectent que les cellules en division (sauf lentivirus)
	Adénovirus	- Production aisée - Peu de risques car responsables de maladies bénignes - Expression seulement transitoire car n'intègrent pas leur patrimoine génétique à la cellule hôte - Immunogènes
	Virus associés aux adénovirus	- Non pathogènes et peu immunogènes - Intègrent leur patrimoine génétique à la cellule hôte - Grande diversité de cellules infectées - Difficile à produire

Les vecteurs les plus efficaces dans le cas des maladies cardiovasculaires sont les adénovirus et les AAV. Ils sont en effet capables d'intégrer leur génome à des cellules qui ne sont pas en division, y compris les cardiomyocytes.

Les adénovirus sont des virus possédant une double hélice d'ADN (génome d'environ 36 kb) entourée d'une capsidie icosaédrique (20 faces) de 74 nm de diamètre.

Les AAV possèdent une double hélice d'ADN de 4,7 kb composée de deux gènes, localisée dans une capsidie icosaédrique de 20 nm de diamètre (Kelemen et Donahue, 2006).

2.2. L'application de la thérapie génique aux myocardiopathies

Des études sont en cours concernant l'évaluation des possibilités thérapeutiques, afin de traiter par thérapie génique les chiens atteints de MCD.

Étant donné que le cycle du Ca^{2+} intra-sarcoplasmique est souvent altéré dans le cas des MCD, ayant pour conséquence des anomalies de contraction et de relaxation des cardiomyocytes, les pompes calciques responsables des flux de Ca^{2+} dans le myocyte sont une cible privilégiée pour

la thérapie génique. Le gradient intracellulaire de Ca^{2+} est partiellement maintenu par l'activité de la pompe Ca^{2+} -ATPase SERCA2, dont l'activité est modulée par un certain nombre de protéines dont la phospholambane (PLB). Les études en cours ont donc pour objectif de favoriser la phosphorylation de la phospholambane. La phospholambane non phosphorylée présente en effet une action inhibitrice du récepteur SERCA2, et inhibe ainsi les transferts de Ca^{2+} vers le réticulum sarcoplasmique. Lorsque la phospholambane est phosphorylée, l'activité inhibitrice de la pompe SERCA2 est levée, favorisant les transferts de Ca^{2+} vers le réticulum sarcoplasmique et améliorant par conséquent la vitesse de relaxation et la contractilité du myocarde (Sleeper *et al.*, 2010).

L'objectif des thérapies est par conséquent de favoriser la forme phosphorylée de la phospholambane ou d'induire l'inhibition de la phospholambane non phosphorylée.

L'injection, à des hamsters souffrant de dystrophie musculaire, d'un vecteur AAV contenant une version mutée du gène *PLB* codant une version pseudophosphorylée de la phospholambane a permis une amélioration de la contractilité du ventricule gauche pendant une durée de 30 semaines. L'injection de ce même gène *via* un vecteur adénovirus à des moutons en IC congestive a permis de traiter l'IC congestive (Sleeper *et al.*, 2010).

La présence de nombreuses cellules apoptotiques lors de maladies cardiaque chez l'homme est également une cible préférentielle pour la thérapie génique. Chez le lapin, le transfert d'un facteur anti-apoptotique (*Bcl-2* : *B-cell CLL/lymphoma 2*) ainsi que d'un domaine de recrutement des caspases (protéines apoptotiques) chez un animal atteint d'IC congestive a permis, pendant une période de six semaines, d'éviter toute dilatation cardiaque. Cependant, en raison du volume plus important du myocarde chez les carnivores domestiques et chez l'homme, le traitement d'un tissu de grande taille avec un vecteur se révèle plus difficile que chez les rongeurs ou la lapin. Il faut en effet utiliser des techniques permettant de délivrer le vecteur à un maximum de cellules du myocarde. Pour que la thérapie génique soit efficace, il faut en effet que 50 % des cardiomyocytes expriment le gène transféré (Sleeper *et al.*, 2010).

Différentes techniques ont été utilisées lors des essais de thérapie génique :

- Instillation intra-péricardique du vecteur (par cathétérisme coronaire) : le gène est uniquement transféré dans l'épicarde et un risque inflammatoire est fortement présent ;
- Injection directe trans-épicaire du vecteur (sous thoracotomie gauche) : le gène est transféré dans tout le ventricule gauche. Cette technique est cependant très invasive et ne permet pas de délivrer le vecteur aux cellules du septum interventriculaire. Le risque inflammatoire est également important ;
- Injection intra-myocardiale par cathétérisme de l'artère carotide : cette technique est moins traumatique et moins invasive.

Des instillations du vecteur par voie endovasculaire (cathétérisme coronaire) ont été réalisées chez trois chiens d'Eau Portugais souffrant de MCD juvénile, et ont permis d'observer une progression plus lente de la maladie lors de l'instillation d'une forme mutante de phospholambane entrant en compétition avec la forme sauvage endogène, inhibant ainsi l'activité globale de cette protéine (Sleeper *et al.*, 2010). Ces techniques représentent par conséquent un espoir thérapeutique, à la fois pour les myocardiopathies canines, mais également pour les myocardiopathies humaines.

Cependant, les vecteurs actuellement disponibles ont des limites et il est notamment actuellement impossible d'insérer (pour une question de taille) le gène *MYBPC3* en entier (dans le cas de la MCH chez le Maine Coon ou le Ragdoll) ou le gène codant la striatine (*STRN*) (dans le

cas de l'ARVC du Boxer) dans des vecteurs de type AAV. Comme des anomalies de l'homéostasie du Ca^{2+} intracellulaire sont toujours présentes chez un animal atteint d'IC congestive, il est intéressant d'avoir pour objectif le contrôle direct de l'homéostasie du Ca^{2+} myocardique, notamment *via* l'utilisation du gène codant la phospholambane (Sleeper *et al.*, 2011).

Si ces thérapies sont efficaces chez les rongeurs, l'application de la thérapie génique à des espèces de taille plus importante comme le chien ou l'homme représente des enjeux supplémentaires. Le chien est donc un modèle extrêmement intéressant afin de pouvoir transférer à l'homme de nouvelles thérapies dont l'efficacité a été prouvée chez les rongeurs (Sleeper *et al.*, 2010).

Conclusion

L'analyse de l'ensemble des études portant sur le déterminisme génétique des myocardiopathies chez les carnivores domestiques met en évidence la très grande complexité des caractéristiques génétiques de ces cardiopathies.

Elles sont en effet complexes à la fois par leur mode de transmission, qui n'est jamais réellement de type mendélien simple (exception faite de la MCD du chien d'Eau Portugais), mais également en raison de la pénétrance très souvent incomplète et de l'expressivité variable de l'allèle, la pénétrance étant, de plus, fortement dépendante de l'âge. Cette complexité rend l'identification du ou des gènes et loci impliqués dans la physiopathologie de ces maladies difficile.

Ainsi, malgré les études déjà réalisées, et même si quelques gènes possèdent des allèles significativement associés à des myocardiopathies, un grand nombre d'allèles à l'origine des cardiopathies chez les carnivores domestiques restent à identifier.

Les éleveurs souhaitent pouvoir évaluer au mieux le risque que leurs animaux développent une myocardiopathie et la transmettent à la descendance. Le test génétique est un outil complémentaire aux diagnostics clinique, électrocardiographique, échocardiographique et à l'analyse des pedigrees. La combinaison de l'ensemble de ces examens permet d'évaluer le risque d'être atteint par une myocardiopathie et ainsi de procéder à une gestion appropriée d'un élevage. De plus, l'utilisation de techniques diagnostiques plus fines comme le Doppler tissulaire myocardique permet un diagnostic précoce de certaines de ces cardiopathies. Il est alors possible de retirer plus précocement de la reproduction les animaux atteints, et ainsi d'éviter la transmission de la maladie à la descendance.

Les carnivores domestiques sont d'excellents modèles pour l'étude des myocardiopathies humaines, en raison de leur très proche similitude clinique et parfois moléculaire. Des essais de thérapie génique réalisés chez le chien représentent ainsi un réel espoir pour la thérapeutique humaine.

De nombreuses études supplémentaires sont néanmoins nécessaires, afin de mettre en évidence de nouveaux allèles à l'origine de myocardiopathies, mais également dans le but de réaliser des essais thérapeutiques pour développer la thérapie génique cardiaque. Les myocardiopathies restent donc encore un domaine d'étude largement ouvert pour les cliniciens, physiopathologiques et généticiens canins, félins et humains.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT JA (2010). Feline hypertrophic cardiomyopathy : an update. *Vet. Clin. Small Anim.*, **40**, 685-700.
- ABBOTT GW (2013). KCNE2 and the K⁺ channel : the tail wagging the dog. *Channels*, **6**(1), 1-10.
- ABITBOL M (2013). *Cours de biologie moléculaire et génétique pré-clinique*. [en ligne]. [<http://eve.vet-alfort.fr/course/view.php?id=67>] (Consulté le 01/11/14).
- ABITBOL M, ANDRE C, QUENEY G, CHAUDIEU G (2010). Les tests génétiques chez le chien. *Rev. Fr. Lab.*, **420**, 69-82.
- AIDERY P, KISSELBACH J, SCHWEIZER PA, BECKER R, KATUS HA, THOMAS D (2012). Impaired ion channel function related to a common KCNQ1 mutation – implications for risk stratification in long QT syndrome 1. *Gene*, **511**, 26-33.
- ATKINS C, GALLO E, KURZMAN I.D, COWEN P (1992). Risk factors, clinical signs, and survival in cats with a clinical diagnosis of idiopathic hypertrophic cardiomyopathy : 74 cases (1985-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **201**, 613-618.
- AZAOUAGH A, CHURZIDSE S, KONORZA T, ERBEL R (2011). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia : a review and update. *Clin. Res. Cardiol.*, **100**(5) : 383-394.
- BARHANIN J, LESAGE F, GUILLEMARE E, FINK M, LAZDUNSKI M, ROMÉY G (1996). K(V)LQT1 and IsK (minK) proteins associate to form the I(Ks) cardiac potassium current. *Nature* **384**, 78-80.
- BASSO C, FOW PR, MEURS KM, TOWBIN JA, SPIER AW, CALABRESE F *et al.* (2004). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in Boxer dogs. *Circulation* **109**, 1180-1185.
- BATESON P, SARGAN D (2012). Analysis of the canine genome and canine health : A commentary. *Vet. J.*, **194**, 265-269.
- BATESON W (1907). Facts limiting the theory of heredity. *Science*, **26**(672), 649-660.
- BATY, CJ (2004). Feline hypertrophic cardiomyopathy : an update. *Vet. Clin. Small Anim. Pract.* **34**, 1227-1234.
- BATY CJ, MALARKEY DE, ATKINS CE *et al.* (2001). Natural history of hypertrophic cardiomyopathy and aortic thromboembolism in a family of domestic shorthair cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **15**, 595-599.
- BAUMWART RD, ORVALHO J, MEURS KM (2007). Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in Boxers with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am. Vet. Res.*, **68**, 524-528.
- BELL JS (2010). Genetic testing and genetic counselling in pet and breeding dogs. [en ligne] *In : World Small Animal Veterinary Association Congress*, Geneva, Switzerland. 2-5 Juin 2010, WSAVA. [<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2010&Category=8395&PID=56159&O=Generic>] (Consulté le 20/03/14).
- BELL JS (2011). Researcher responsibilities and genetic counseling for purebred dog populations. *Vet. J.*, **189**, 234-235.
- BORGEAT K, CASAMIAN-SORROSAL D, HELPS C, FUENTES VL, CONNOLLY DJ (2014). Association of the myosin binding protein C3 mutation (MYBPC3-R820W) with cardiac death in a survey on Ragdoll cats. *J. Vet. Cardiol.*, **16**, 73-80.

- BOSSE P (2013). *Cours de biologie moléculaire et génétique précliniques*. [en ligne]. [<http://eve.vet-alfort.fr/course/view.php?id=67>] (Consulté le 01/11/14).
- BROWNLIE SE, COBB MA (1999). Observations on the development of congestive heart failure in Irish wolfhounds with dilated cardiomyopathy. *J. Small Anim. Pract.*, **40**, 371-377.
- BURKETT EL, HERSHBERGER RE (2005). Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **45**, 969-981.
- BUSH SW, MOORE JH (2012). Chapter 11 : Genome wide association studies. *PLoS Comput. Biol.*, **8** (12), e1002822, 1-11.
- BUYANDELGER B, NG KE, MIOCIC S, PIOTROWSKA I, GUNKEL S, KU CH, *et al.* (2011). MLP (muscle LIM protein) as a stress sensor in the heart. *Eur. J. Physiol.*, **462**, 135-142.
- CANINE AND FELINE HEREDITARY DISEASE TESTING LABORATORIES (Mise à jour le 21/11/14). In : *PennGen Laboratories*. [<http://research.vet.upenn.edu/Default.aspx?TabId=7620>] (Consulté le 30/11/14).
- CARLOS SAMPEDRANO C, CHETBOUL V, GOUNI V, NICOLLE AP, POUCHELON JL, TISSIER R (2006). Systolic and diastolic myocardial dysfunction in cats with hypertrophic cardiomyopathy or systemic hypertension. *J. Vet. Intern. Med.*, **20**, 1106-1115.
- CARLOS SAMPEDRANO C, CHETBOUL V, MARY J, TISSIER R, ABITBOL M, SERRES F *et al.* (2009). Prospective echocardiographic and tissue Doppler imaging screening of a population of Maine Coon cats tested for the A31P mutation in the myosin-binding protein C gene: a specific analysis of the heterozygous status. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**, 91-99.
- CASAMIAN-SORROSAL D, HELPS C, COSTA M, GRUFFYDD-JONES T (2010). Prevalence of the myosin-binding protein C mutation in Ragdoll and Maine Coon cats in the United Kingdom. In : *Proceedings of the 53rd annual BSAVA Congress*, 53rd BSAVA Congress, April 2010, Birmingham, United Kingdom.
- CESTA MF, BATY CJ, KEENE BW, SMOAK IW, MALARKEY DE (2005). Pathology of end-stage remodelling in a family of cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Vet. Pathol.*, **42**, 458-467.
- CHETBOUL V (2002). Tissue Doppler imaging : a promising technique for quantifying regional myocardial function. *J. Vet. Cardiol.*, **4**, 7-12.
- CHETBOUL V (2010). Advanced techniques in echocardiography in small animals. *Vet. Clin. Small Anim.*, **40**, 529-543.
- CHETBOUL V (2014). Cours de médecine cardio-respiratoire : l'insuffisance cardiaque. [en ligne]. [<http://eve.vet-alfort.fr/mod/resource/view.php?id=8444>] (Consulté le 14/12/2014).
- CHETBOUL V, CARLOS SAMPEDRANO C, TESTAULT I, POUCHELON JL (2004). Use of tissue Doppler imaging to confirm the diagnostic of dilated cardiomyopathy in a dog with equivocal echocardiographic findings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **225**, 1877-1880.
- CHETBOUL V, GOUNI V, CARLOS SAMPEDRANO C, TISSIER R, SERRES F, POUCHELON JL (2007). Assessment of regional systolic and diastolic myocardial function using tissue Doppler and strain imaging in dogs with dilated cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **21**, 719-730.
- CHETBOUL V, PETIT A, GOUNI V, TREHIOU-SECHI E, MISBACH C, BALOUKA D *et al.* (2012). Prospective echocardiographic and tissue Doppler screening of a large Sphynx cat population : reference ranges, heart disease prevalence and genetic aspects. *J. Vet. Cardiol.*, **14**, 497-509.
- CLUB DU BARBET, LAGOTTO ET AUTRES CHIENS D'EAU. [en ligne]. (Mise à jour le 03/11/11). [<http://www.barbetlagotto-chiensdeau.fr/index.php>] (Consulté le 10/11/14).
- CLUB BELGE DU DOBERMAN. [en ligne]. [<http://www.dobermannclub.be/index.htm>] (Consulté le 10/11/14).

- CLUB FRANÇAIS DU CHIEN TERRE NEUVE ET DU LANDSEER. [en ligne]. [<http://www.cfctnl.org>] (Consulté le 10/11/2014).
- CLUB DE RACE FRANCAIS DU DOGUE ALLEMAND. [en ligne]. (Mise à jour le 15/10/14). [<http://www.doggenclub.com/>] (Consulté le 10/11/14).
- COLLINS LM, ASHER L, SUMMERS J, MCGREEVY P (2011). Getting priorities straight : risk assessment and decision-making in the improvement of inherited disorders in pedigree dogs. *Vet. J.*, **189**, 147–154.
- CURRAN J, ET MOHLER P (2011). Coordinating electrical activity of the heart : ankyrin polypeptides in human cardiac disease. *Expert Opin. Ther. Targets*, **15**, 789-801.
- DAMBACH DM, LANNON A, SLEEPER MM, BUCHANAN J (1999). Familial dilated cardiomyopathy of young Portuguese water dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **13**, 65–71.
- DISTL O, VOLLMAR AC, BROSCHE C, HAMANN H, FOX PR (2007). Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish wolfhounds. *Heredity*, **99**, 460–465.
- DUKES-MCEWAN, J (1999). Familial DCM in Newfoundland dogs. Presented at the, *In : ESVIM Newsletter*, 9th Annual European Society of Veterinary Internal Medicine Congress, October 14-16, 1999, Perugia, Italy, 10-10.
- DUKES-MCEWAN J, JACKSON IJ (2002). The promises and problems of linkage analysis by using the current canine genome map. *Mamm. Genome* **13**, 667–672.
- DUKES-MCEWAN J, BORGARELLI M, TIDHOLM A, VOLLMAR AC, HAGGSTROM J (2003). Proposed guidelines for the diagnosis of canine idiopathic dilated cardiomyopathy. *J. Vet. Cardiol.*, **5**, 7-19.
- DUKES MC EWANS J, STEPHENSON H, WOTTON P, CATTANACH B (2010). Cardiomyopathy in Boxer dogs. *Vet. Times*, November 22, 2010, 6-9.
- EVERETT RM, MCGANN J, WIMBERLY HC, ALTHOLL J (1999). Dilated cardiomyopathy of Doberman Pinschers : retrospective histomorphologic evaluation of heart from 32 cases. *Vet. Pathol.*, **36**, 221-227.
- FATKIN D, GRAHAM RM (2002). Molecular mechanisms of inherited cardiomyopathies. *Physiol. Rev.*, **82**, 945–980.
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Standard de la race Dobermann. (Mise à jour le 14/02/94). *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/143g02-fr.pdf>] (Consulté le 10/11/14).
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Standard de la race Terre Neuve. (Mise à jour le 06/11/96) *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/050g02-fr.pdf>] (Consulté le 10/11/14).
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Standard de la race Irish wolfhound. (Mise à jour le 13/10/02). *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/160g10-fr.pdf>] (Consulté le 10/11/14).
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Standard de la race Deutscher Boxer. (Mise à jour le 09/07/08). *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/144g02-fr.pdf>] (Consulté le 10/11/14).
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Stratégies internationales d'élevage de la FCI (Publié en février 2010). *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/fr/Elevage-42.html>] (Consulté le 15/09/14).
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Standard de la race Chien d'Eau Portugais. (Mise à jour le 05/05/10). *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/037g08-fr.pdf>] (Consulté le 10/11/2014).
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Standard de la race Dogue Allemand. (Mise à jour le 18/06/13). *In : Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/144g02-fr.pdf>] (Consulté le 10/11/14).

- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). Le règlement de la FCI. (Mise à jour le 01/04/14) In ; *Fédération Cynologique Internationale* [en ligne] [<http://www.fci.be/fr/Le-Reglement-de-la-FCI-40.html>] (Consulté le 15/09/14).
- FORMAN OP, PENDERIS J, HARTLEY C, HAYWARD LJ, RICKETTS SL, MELLERSH CS (2012). Parallel mapping and simultaneous sequencing reveals deletions in BCAN and FAM83H associated with discrete inherited disorders in a domestic dog breed. *PLoS genet.* **8**(1), e1002462, 1-9.
- FOX PR (2004). Endomyocardial fibrosis and restrictive cardiomyopathy : pathologic and clinical features. *J. Vet. Cardiol.* **6**, 25–31.
- FOX PR, LIU SK, MARON BJ (1995). Echocardiographic assessment of spontaneously occurring feline hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, **92**, 2645-2651.
- FOX PR, RUSH JE, REYNOLDS CA, DEFRANCESCO TC, KEENE BW, ATKINS CE *et al.* (2011). Multicenter evaluation of plasma N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-pro BNP) as a biochemical screening test for asymptomatic (occult) cardiomyopathy in cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **25**, 1010-1016.
- FRIES R, HEANEY AM, MEURS KM (2008). Prevalence of the Myosin-Binding Protein-C mutation in Maine Coon Cats *J. Vet. Intern. Med.*, **22**, 893-896.
- GALIBERT F, ANDRE C (2008). The Dog : a powerful model for studying genotype-phenotype relationships. *Comp. Biochem. Physiol.*, **Part D 3**, 67-77.
- GANDOLFI B, OUTERBRIDGE CA, BERESFORD LG, MYERS JA, PIMENTEL M, ALHADDAD H *et al.* (2010). The naked truth : Sphynx and Devon Rex cat breed mutations in *KRT71*. *Mamm. Genome.*, **21**, 509-515.
- GARCIA-PAVIA P, COBO-MARCOS M, GUZZO-MERELLO G, GOMEZ-BUENO M, BORNSTEIN B, LARA-PEZZI E *et al.*, 2013. Genetics in dilated cardiomyopathy. *Biomark. Med.*, **4**, 517-533.
- GODIKSEN M, GRANSTROM S, KOCJ J, CHRISTIANSEN M (2011). Hypertrophic cardiomyopathy in young Maine Coon cats caused by the p.A31P cMyBP-C mutation – the clinical significance of having the mutation. *Acta Vet. Scand.*, **53**(7), 1-11.
- GRANSTROM S, NYBERG GODIKSEN MT, CHRISTIANSEN M, PIPPER CB, WILLESEN JT, KOCH J (2011) Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a cohort of British Shorthair cats in Denmark. *J. Vet. Intern. Med.*, **25**, 866-871.
- GUNDLER S, TIDHOLM A, HAGGSTROM J (2008) Prevalence of myocardial hypertrophy in a population of asymptomatic Swedish Maine Coon cats. *Acta Vet. Scand.*, **50**(22), 1-6.
- HARDIE DG, CARLING D (1997). The AMP-activated Protein Kinase. *Eur. J. Biochem.*, **246**, 259-273.
- HARPSTER, NK (1983). Boxer cardiomyopathy, In : *Current Veterinary Therapy VIII*. WB Saunders, Philadelphia, 329–337.
- HEDHAMMAR AA, INDREBO A (2011). Rules, regulations, strategies and activities within the Fédération Cynologique Internationale (FCI) to promote canine genetic health. *Vet. J.*, **189**, 141–146.
- HEDHAMMAR AA, MALM S, BONNETT B (2011). International and collaborative strategies to enhance genetic health in purebred dogs. *Vet. J.*, **189**, 189-196.
- HERNDON WE, KITTLESON MD, SANDERSON K, DROBATZ KJ, CLIFFORD CA, GELZER A *et al.* (2002). Cardiac troponin I in feline hypertrophic cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **16**, 558-564.
- HERSHBERGER RE, LINDENFELD J, MESTRONI L, SEIDMAN C, TAYLOR M, TOWBIN J (2009). Genetic evaluation of cardiomyopathy – a Heart Failure Society of America practice guideline. *J. Card. Fail.*, **15**, 83-97.
- HYUN C, FILIPPICH LJ (2006). Molecular genetics of sudden cardiac death in small animals - a review. *Vet. J.*, **171**, 39–50.

- HYUN C, LAVULO L (2006). Congenital heart diseases in small animals : Part I. Genetic pathways and potential candidate genes. *Vet. J.*, **171**, 245-255.
- KASAHARA H, LEE B, SCHOTT JJ, BENSON DW, SEIDMAN JG, SEIDMAN CE *et al.* (2000). Loss of function and inhibitory effects of human CSX/NKX2.5 homeoprotein mutations associated with congenital heart disease. *J. Clin. Invest.* **106**, 299-308.
- KASKI JP, SYRRIS P, BURCH M, TOME-ESTEBAN MT, FENTON M, CHRISTIANSEN M *et al.* (2008). Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children is caused by mutations in cardiac sarcomere protein genes. *Heart*, **94**, 1478-1484.
- KELEMEN K, DONAHUE JK (2006). Approaches for cardiovascular gene therapy in animal models. *Drug Discov. Today*, **3**, 305-310.
- KEREN A, SYRRIS P, MCKENNA WJ (2008). Hypertrophic cardiomyopathy : the genetic determinants of clinical disease expression. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, **5**, 158-168.
- KITTLESON MD (2005). Feline myocardial disease. In : Textbook of Veterinary Internal Medicine. S.J. Ettinger, E.C. Feldman., Elsevier, St. Louis, 1082-1103.
- KITTLESON MD, MEURS KM, MUNRO MJ, KITTLESON JA, LIU SK, PION PD *et al.* (1999). Familial hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon cats : an animal model of human disease. *Circulation*, **99**, 3172-3180.
- KITTLESON MD, MEURS KM, MUNRO M (2010). Letter to the Editor. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 1242-1243.
- LAMORIL J, AMEZIANE N, DEYBACH J.C, BOUIZEGARENE P, BOGARD M. (2008). Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. *Immuno-anal. Biol. Spe.*, **23**, 260-279.
- LEFBOM BK, ROSENTHAL SL, TYRRELL WD, SAUNDERS TG, FERGUSON MJ, RUSH JE *et al.* (2001). Severe hypertrophic cardiomyopathy in 10 young Ragdoll cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **15**, p.308.
- LEQUARRÉ AS, ANDERSSON L, ANDRÉ C, FREDHOLM M, HITTE C, LEEB T *et al.* (2011). LUPA : a European initiative taking advantage of the canine genome architecture for unraveling complex disorders in both human and dogs. *Vet. J.*, **189**, 155-159.
- LEROY G (2011). Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs : results from pedigree analyses. *Vet. J.*, **189**, 177-182.
- LEROY G, BAUMUNG R (2011). Mating practices and the dissemination of genetic disorders in domestic animals, based on the example of dog breeding. *Anim. Genet.*, **42**, 66-74.
- LEROY G, ROGNON X (2012). Assessing the impact of breeding strategies on inherited disorders and genetic diversity in dogs. *Vet. J.*, **194**, 343-348.
- LINDBLAD-TOH K, WADE CM, MIKKELSEN TS, KARLSSON EK, JAFFE DB, KAMAL M *et al.* (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, **438**(7069), 803-819.
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Standard de l'American Shorthair. (Mise à jour le 12/06/09) In : *Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne] [http://www.loof.asso.fr/download/standards/std_ams_amw.pdf] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Standard de l'European Shorthair. (Mise à jour le 12/06/09) In : *Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne] [http://www.loof.asso.fr/download/standards/std_eur.pdf] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Standard du Ragdoll. (Mise à jour le 12/06/09) In : *Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne] [http://www.loof.asso.fr/download/standards/std_rag.pdf] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Standard du Sphynx. (Mise à jour le 12/06/09) In : *Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne] [http://www.loof.asso.fr/download/standards/std_sph.pdf] (Consulté le 10/11/14).

- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Standard du British Shorthair. (Mise à jour le 29/11/09) *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/download/standards/std_bri_brl-2011.pdf] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Standard du Persan. (Mise à jour le 17/10/11) *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/download/standards/std_per_exo-2012.pdf] (Consulté le 14/10/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Fiches du conseil scientifique. (Mise à jour en avril 2012) *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [<http://www.loof.asso.fr/sante/sante.php>] (Consulté le 30/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Le British Shorthair. (Mise à jour en 2014). *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/races/desc_race.php] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). L'European Shorthair. (Mise à jour en 2014). *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/races/desc_race.php] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Le Maine Coon. (Mise à jour en 2014). *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/races/desc_race.php?id_race=32] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Le Ragdoll. (Mise à jour en 2014). *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/races/desc_race.php] (Consulté le 10/11/14).
- LIVRE OFFICIEL DES ORIGINES FELINES (LOOF). Le Sphynx. (Mise à jour en 2014) *In : Livre Officiel des Origines Félines* [en ligne]. [http://www.loof.asso.fr/races/desc_race.php] (Consulté le 10/11/14).
- LONGERI M, FERRARI P, KNAFELZ P, MEZZELANI A, MARABOTTI A, MILANESI L *et al.* (2013). Myosin-binding protein C DNA variants in domestic cats (A31P, A74T, R820W) and their association with Hypertrophic Cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **27** (2), 275-285.
- LYONS AR, SATO M, HAJJAR R, SAMULSKI RJ, HARDING SE (2008). Gene therapy : targeting the myocardium. *Heart*, **94**, 89-99.
- LYONS LA (2010). Feline genetics : clinical applications and genetic testing. *Top. Companion Anim. M.*, **25**, 203-212.
- LYONS LA (2012). Genetic testing in domestic cats. *Mol. Cell. Probe.*, **26**, 224-230.
- MACDONALD K (2010). Hypertrophic cardiomyopathy *In : Ettinger S.J, Feldman E.C. (editors). Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and the cat Vol. 1. 7th ed.* St Louis, Saunders-Elseviers, 1320-1324.
- MARCUS FI, MCKENNA WJ, SHERRILL D, BASSO C, BAUCE B, BLUEMKE DA *et al.* (2010). Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy / dysplasia : proposed modifications of the Task Force criteria. *Eur. Heart J.*, **31**, 806-814.
- MARCUS FI, EDSON S, TOWBIN JA (2013). Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy : a practical guide for physicians. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **61**, 1945-1948.
- MARON BJ, MARON MS (2013). Hypertrophic Cardiomyopathy. *Lancet*, **381**, 242-255.
- MARON BJ, MARON MS, SEMSARIAN C (2012). Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **60**, 705-715.
- MARTIN L, VANDEWOUDE S, BOON J *et al.* (1994). Left ventricular hypertrophy in a closed colony of Persian cats [abstract]. *J. Vet. Intern. Med.*, **8**, p. 143.
- MARY J, CHETBOUL V, CARLOS SAMPEDRANO C, ABITBOL M, GOUNI V, TREHIOU-SECHI E (2010). Prevalence of the MYBPC3-A31P mutation in a large European feline population and association with hypertrophic cardiomyopathy in the Maine Coon breed. *J. Vet. Cardiol.*, **12**, 155-161.

- MAUSBERG TB, WESS G, SIMAK J, KELLER L, DROGEMULLER M, DROGEMULLER C *et al.* (2011). A locus on chromosome 5 is associated with dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *PLoS One* **6**(5), e20042, 1-6.
- MELLERSH C (2008). Give a dog a genome. *Vet. J.*, **178**, 48-52.
- MELLERSH C (2012). DNA testing and the domestic dog. *Mamm. Genome*, **23**, 109-123.
- MENON SC, OLSON TM, MICHELS VV (2008). Genetics of Familial dilated cardiomyopathy. *Prog. Pediatr. Cardiol.*, **25**, 57-67.
- MENOTTI-RAYMOND M, DAVID VA, PFLUEGER MS, LINDBLAD-TOH K, WADE CW, O'BRIEN S *et al.* (2008). Patterns of molecular genetic variation among cat breeds. *Genomics*, **91**(1), 1-11.
- MERNER ND, HODGKINSON KA, HAYWOOD AFM, CONNORS S, FRENCH VM, DRENCKHAHN JD *et al.* (2008). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5 is a fully penetrant, lethal arrhythmic disorder caused by a missense mutation in the *TMEM43* gene. *Am. J. Hum. Genet.*, **82**, 809-821.
- MEURS KM (2004). Boxer dog cardiomyopathy : an update. *Vet. Clin. Small Anim.*, **34**, 1235-1244.
- MEURS KM (2010a). Genetics of cardiac disease in the small animal patient. *Vet. Clin. Small Anim. Pract.*, **40**, 701-715.
- MEURS KM (2010b). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in the Boxer *In* : Ettinger S.J, Feldman E.C. (editors). *Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and the cat Vol. 1.* 7th ed. St Louis, Saunders-Elseviers, 1325-1326.
- MEURS KM (2010c). Canine dilated cardiomyopathy *In* : Ettinger S.J, Feldman E.C. (editors). *Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and the cat Vol. 1.* 7th ed. St Louis, Saunders-Elseviers, 1320-1324.
- MEURS KM, KITTLESON MD, TOWBIN JA, WARE WA (1997). Familial systolic anterior motion of the mitral valve and/or hypertrophic cardiomyopathy is apparently inherited as an autosomal dominant trait in a family of American shorthair cats. *J. Vet. Intern. Med.* **11**, p.138.
- MEURS KM, SPIER AW, MILLER MW, LEHMKUHL L, TOWBIN JA (1999). Familial ventricular arrhythmias in Boxers. *J. Vet. Intern. Med.*, **13**, 437-439.
- MEURS KM, MILLER MW, WRIGHT NA (2001). Clinical features of dilated cardiomyopathy in Great Danes and results of a pedigree analysis : 17 cases (1990-2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **218**, 729-732.
- MEURS KW, BAUMWART R, ATKINS CE, BONAGURA JB, DE FRANCESCO T, KEENE BW *et al.* (2003). Myocardial dysfunction in Boxer dogs with tachyarrhythmia. *J. Vet. Intern. Med.*, **17**, p.439.
- MEURS KM, SANCHEZ X, DAVID RM, BOWLES NE, TOWBIN JA, REISER PJ *et al.* (2005). A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Mol. Gen.*, **14**, 3587-3593.
- MEURS KM, LACOMBE VA, DRYBURGH K, FOX PR, REISER PR, KITTLESON MD (2006). Differential expression of the cardiac ryanodine receptor in normal and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy canine hearts. *Hum. Genet.*, **120**, 111-118.
- MEURS KM, FOX PR, NORGARD M, SPIER AW, LAMB A, KOPLITZ SL, *et al.* (2007a). A prospective genetic evaluation of familial dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *J. Vet. Intern. Med.*, **21**, 1016-1020.
- MEURS KM, NORGARD MM, EDERER MM, HENDRIX KP, KITTLESON MD, (2007b). A substitution mutation in the myosin binding protein C gene in ragdoll hypertrophic cardiomyopathy. *Genomics*, **90**, 261-264.
- MEURS KM, EDERER MM, STERN JA (2007c). Desmosomal gene evaluation in Boxers with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am. J. Vet. Res.*, **68**, 1338-1341.

- MEURS KM, MAUCELI E, ACLAND G, LINDBLAD-TOH K (2009a). Genome wide association identifies a candidate mutation for ARVC in the Boxer dog. *In : Research Abstract Program of the 2009 ACVIM Forum & Canadian Veterinary Medical Association Convention*, Montréal, Québec, June 3-6, 2009, *J. Vet. Intern. Medicine*, **23**, 687-688.
- MEURS KM, NORGARD MM, KUAN M, HAGGSTROM J, KITTLESON M (2009b). Analysis of 8 sarcomeric candidate genes for feline hypertrophic cardiomyopathy mutations in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**, 840-843.
- MEURS KM, MAUCELI E, LAHMERS S, ACLAND GM, WHITE SN, LINDBLAD-TOH K (2010). Genome Wide Association identifies a deletion in the 3' untranslated region of striatin in a canine model of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy : identification of striatin deletion in canine ARVC. *Hum. Genet.*, **128**, 315-324.
- MEURS KM, LAHMERS S, KEENE BW, WHITE SN, OYAMA MA, MAUCELI E *et al.* (2012). A splice site mutation in a gene encoding for PDK4, a mitochondrial protein, is associated with the development of dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *Hum. Genet.*, **131**, 1319-1325.
- MEURS KM STERN JA, SISSON DD, KITTLESON MD, CUNNINGHAM SM, AMES MK *et al.* (2013). Association of dilated cardiomyopathy with the striatin mutation genotype in Boxer dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **27**, 1437-1440.
- MEURS KM, STERN JA, REINA-DORESTE R, SPIER AW, KOPLITZ SL, BAUMWART RD (2014). Natural History of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in the Boxer dog : a prospective study. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**, 1214-1220.
- MISBACH C, CHETBOUL V (2014). Intérêt des principaux biomarqueurs cardiaques circulant dans les cardiopathies du chien et du chat. *EMC Vétérinaire*, **11**, 1-10.
- MOGENSEN J, KUBO T, DUQUE M, URIBE W, SHAW A, MURPHY R *et al.* (2003). Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *J. Clin. Invest.*, **111**, 209-216.
- NAKAGAWA K, TAKEMURA N, MACHIDA N, KAWAMURA M, AMASAKI H, HIROSE H (2002). Hypertrophic cardiomyopathy in a mixed breed cat family. *J. Vet. Med. Sci.* **64**, 619-621.
- NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (2014). Genetics Home Reference [en ligne]. Bethesda (MD): The Library; [<http://ghr.nlm.nih.gov/>] (Consulté le 15/10/14).
- NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY (NCSU), VETERINARY CARDIAC GENETIC LABORATORY. Boxer arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (2014a). *In : North Carolina State University*. [en ligne]. [<http://www.ncstatevets.org/genetics/boxerarvc/>] (Consulté le 12/10/14).
- NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY (NCSU), VETERINARY CARDIAC GENETIC LABORATORY. Doberman Pinscher dilated cardiomyopathy (2014b). *In : North Carolina State University*. [en ligne]. <http://www.ncstatevets.org/genetics/dobermanpinscherdcml/> (Consulté le 12/10/2014).
- NOSZCZYK-NOWAK A (2011). NT-proBNP and troponin I as predictors of mortality in dogs with heart failure. *Pol J Vet Sci*, **14**, 551-556.
- O'BRIEN SJ, DRISCOLL C, PONTIUS J, PECON-SLATTERY J, MENOTTI-RAYMOND M (2008). State of Cate genomics. *Trends Genet.*, **24**, 268-279..
- O'GRADY MR, HORNE R (1998). The prevalence of dilated cardiomyopathy in Dobermann pinschers : a 4.5 year follow-up. *In : Proceedings of the 16th ACVIM Forum*, 1998, San Diego, p.689.
- O'SULLIVAN ML, O'GRADY MR, PYLE WG, DAWSON JF (2011). Evaluation of 10 genes encoding cardiac proteins in Doberman Pinscher with dilated cardiomyopathy. *Am. J. Vet. Res.*, **72**, 932-939.
- OAKLEY CE, HAMBLY BD, CURMI PMG, BROWN LJ (2004). Myosin binding protein C : structural abnormalities in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Cell. Res.*, **14**, 95-110.

- OLSON TM, KISHIMOTO NY, WHITBY FG, MICHELS VV (2001). Mutations that alter the surface charge of alpha-tropomyosin are associated with dilated cardiomyopathy. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **33**, 723-732.
- ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN ANIMALS (OMIA) (Mise à jour le 12/11/14). In : *The University of Sydney*. [<http://omia.angis.org.au/home/>] (Consulté le 17/11/14).
- OSTRANDER EA, WAYNE RK (2005). The canine genome. *Genome Res.*, **15**, 1706–1716.
- OWCZAREK-LIPSKA M, MAUSBERG TB, STEPHENSON H, DUKES-MCEWAN J, WESS G, LEEB T (2012). A 16-pb deletion in the canine *PDK4* gene is not associated with dilated cardiomyopathy in a European cohort of Doberman Pinschers. *Anim. Genet.*, **44**, p.239.
- OXFORD EM, DANKO CG, FOX PR, KORNEICH BG, MOISE NS (2014). Change in β -catenin localization suggests involvement of the canonical Wnt pathway in Boxer dogs with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**, 92-101.
- OYAMA MA, SISSON DD, SOLTER PF (2007). Prospective screening for occult cardiomyopathy in dogs by measurement of plasma atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, and cardiac troponin-I concentrations. *Am J Vet Res*, **68**, 42-47.
- OYAMA MA, REIKEN S, LEHNART SE, CHITTUR SV, MEURS KM, STERN J *et al.* (2008). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Boxer dogs is associated with calstabin2 deficiency. *J. Vet. Cardiol.*, **10**(1), 1-10.
- OYAMA MA, CHITTUR SV, REYNOLDS CA (2009). Decreased triadin and increased calstabin 2 expression in Great Danes with dilated cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**, 1014-1019.
- PALERMO V, JOHNSON MJ, SALA E, BRAMBILLA PG, MARTIN MW (2011). Cardiomyopathy in Boxer dogs : a retrospective study of the clinical presentation, diagnostic findings and survival. *J. Vet. Cardiol.*, **13**, 45-55.
- PARKER HG, KIM LV, SUTTER NB, CARLSON S, LORENTZEN TD, MALEK TB *et al.* (2004). Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science*, **304**, 1160–1164.
- PARKER HG, MEURS KM, OSTRANDER EA (2006). Finding cardiovascular disease genes in the dog. *J. Vet. Cardiol.*, **8**, 115–127.
- PARKER HG, SHEARIN AL, OSTRANDER EA (2010). Man's best friend becomes biology's best in show : genome analyses in the domestic dog. *Annu. Rev. Genet.*, **44**, 309-336.
- PARVATIYAR MS, LANDSTROM AP, FIGUEIREDO-FREITAS C, POTTER JD, ACKERMAN MJ, PINTO, JR (2012). A mutation in TNNC1-encoded cardiac troponin C, TNNC1-A31S, predisposes to hypertrophic cardiomyopathy and ventricular fibrillation. *J. Biol. Chem.*, **287**, 31845–31855.
- PASCOLO JM. Chat persan chinchilla. (Publié le 01/09/14) In : *Wikimedia commons*. [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chat_persan_chinchilla.jpg] (Consulté le 10/11/14).
- PAYNE JR, LUIS FUENTES V, BOSWOOD A, CONNOLLY DJ, KOFFAS H, BRODBELT D (2010). Population characteristics and survival in 127 referred cats with hypertrophic cardiomyopathy (1997 to 2005). *J. Small Anim. Pract.*, **51**, 540-547.
- PAYNE JR, BORGEAT K, CONNOLLY DJ, BOSWOOD A, DENNIS S, WAGNER T *et al.* (2013). Prognostic indicators in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **27**, 1427-1436.
- PETRIC AD, STABEJ P, ZEMVA A (2002). Dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers : survival, causes of death and a pedigree review in a related line. *J. Vet. Cardiol.*, **4**, 17-24.
- PHILIPP U, BROSCHK C, VOLLMAR A, DISTL O (2007). Evaluation of tafazzin as candidate for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *J. Hered.*, **98**, 506–509.
- PHILIPP U, VOLLMAR A, DISTL O (2008a). Evaluation of six candidate genes for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Anim. Genet.*, **39**, 88–89.
- PHILIPP U, VOLLMAR A, DISTL O (2008b). Evaluation of the titin-cap gene (TCAP) as candidate for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Anim. Biotechnol.*, **19**, 231–236.

- PHILIPP U, VOLLMAR A, HAGGSTROM J, THOMAS A, DISTL O (2012). Multiple loci are associated with dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Plos One*, **7**(6), e36691, 1-6.
- POLLINGER JP, BUSTAMANTE CD, FLEDEL-ALON A, SCHMUTZ S, GRAY MM, WAYNE RK (2005). Selective sweep mapping of genes with large phenotypic effects. *Genome Res.*, **15**, 1809–1819.
- PURCELL S, NEALE B, TODD-BROWN K, THOMAS L, FERREIRA MAR, BENDER D *et al.* (2007). PLINK : a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.*, **81**, 559–575.
- RASSEMBLEMENT DES AMATEURS DE LÉVRIERS IRLANDAIS ET D'ECOSSE (R.A.L.I.E.) (Mise à jour le 23/01/14). [en ligne].
[http://www.ralie.fr/main/francais/fr_iwpresentation.html] (Consulté le 16/10/14).
- REINA-DORESTE Y, STERN JA, MEURS KM (2013). Analysis of 5 candidate genes for feline hypertrophic cardiomyopathy mutations in the Sphynx cat. *In : 2013 ACVIM Forum Research Abstracts Program*, June 12-15, 2013, Seattle, Washington. *J. Vet. Intern. Med.*, **27**, 644.
- RICHARDSON P, MCKENNA W, BRISTOW M, MAISCH B, MAUTNER B, O'CONNELL J *et al.*, 1996. Report of the 1996 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation*, **93**, 841-842.
- RINCON G, KATARINA T, BELANGER JM, LAGOUTTE L, MEDRANO JF, ANDRE C *et al.* (2011). Comparison of buccal and blood-derived canine DNA, either native or whole genome amplified, for array-based genome-wide association studies. *BMC Res. Notes*, **226**, 1-6.
- RIPOLL VERA, T, MONSERRAT IGLESIAS, L, HERMIDA PRIETO M, ORTIZ M, RODRIGUEZ GARCIA I, GOVEA CALLIZO N *et al.* (2010). The R820W mutation in the MYBPC3 gene, associated with hypertrophic cardiomyopathy in cats, causes hypertrophic cardiomyopathy and left ventricular non-compaction in humans. *Int. J. Cardiol.*, **145**, 405–407.
- ROYAL CANIN. Le Boxer. (Mise à jour en 2014). *In : Fiches de race Royal Canin*. [en ligne].
[[http://www.royalcanin.fr/le-chiot-et-le-chien/le-chien/les-chiens-de-race/chien-de-race-les-fiches-de-race./\(race\)/32924/\(posttop_x\)/57/\(posttop_y\)/3](http://www.royalcanin.fr/le-chiot-et-le-chien/le-chien/les-chiens-de-race/chien-de-race-les-fiches-de-race./(race)/32924/(posttop_x)/57/(posttop_y)/3)] (Consulté le 10/11/14).
- ROYAL CANIN. Le Maine Coon (Mise à jour en 2014). *In : Fiches de race Royal Canin*. [en ligne].
[<http://www.royalcanin.fr/le-chaton-et-le-chat/le-chat/les-fiches-de-races-de-chat/maine-coon>] (Consulté le 10/11/14).
- SAMPSON J (2011). How the Kennel Club is tackling inherited disorders in the United Kingdom. *Vet. J. Lond. Engl.*, **189**(2), 136–140.
- SANGUINETTI, MC, CURRAN ME, ZOU A, SHEN J, SPECTOR PS, ATKINSON DL *et al.* (1996). Coassembly of K(V)LQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac I(Ks) potassium channel. *Nature*, **384**, 80–83.
- SCHULZE-BAHR E (2008). Susceptibility genes and modifiers for cardiac arrhythmias. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **98**, 289-300.
- SEPPÄLÄ EH, JOKINEN TS, FUKATA M, FUKATA Y, WEBSTER MT, KARLSSON EK *et al.* (2011). LGI2 truncation causes a remitting focal epilepsy in dogs. *PloS Genet*, **7**, e1002194, 1-10.
- SEQUEIRA V, NIJENKAMP LAM, REGAN JA, VAN DER VELDER J (2014). The physiological role of cardiac cytoskeleton and its alteration in heart failure. *Biochim. Biophys. Acta*, **1838**, 700-722.
- SHEARIN AL, OSTRANDER EA (2010). Leading the way : canine models of genomics and disease. *Dis. Model Mech.*, **3**, 27-34.
- SILBERNAGL S ET DESPOPOULOS A (2008). Atlas de poche de physiologie. Paris, Médecine Sciences Flammarion. 441p.

- SILVERMAN S, STERN J, MEURS KM (2012). Hypertrophic cardiomyopathy in the Sphynx cat : a retrospective evaluation of clinical presentation and heritable etiology. *J. Feline Med. Surg.*, **14**, 246-249.
- SINGLETERY GE, MORRIS NA, O'SULLIVAN LM, GORDON SG, OYAMA MA (2012). Prospective evaluation of NT-proBNP assay to detect occult dilated cardiomyopathy and predict survival in Doberman Pinschers. *J. Vet. Intern. Med.*, **26**, 1330-1336.
- SLEEPER MM, HENTHORN PS, VIJAYASARATHY C, DAMBACH DM, BOWERS T, TIJSKENS P *et al.* (2002). Dilated cardiomyopathy in juvenile Portuguese water dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **16**, 52-62.
- SLEEPER MM, BISH LT, SWEENEY HL (2010). Status of therapeutic gene transfer to treat canine dilated cardiomyopathy in dogs. *Vet. Clin. Small Anim.*, **40**, 717-724.
- SLEEPER MM, BISH LT, HASKINS M, PONDER KP, SWEENEY HL (2011). Status of therapeutic gene transfer to treat cardiovascular disease in dogs and cats. *J. Vet. Cardiol.*, **13**, 131-140.
- SOHL G, WILLECKE K (2004). Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc. Res.*, **62**, 228-232.
- SORENSEN AB, SONDERGAARD MT, OVERGAARD MT (2013). Calmodulin in a heartbeat. *FEBS J.*, **280**, 5511-5532.
- STABEJ P, IMHOLZ S, VERSTEEG SA, ZIJLSTRA C, STOKHOF AA, PETRIC AD *et al.* (2004). Characterization of the canine desmine (*DES*) gene and evaluation as a candidate gene for dilated cardiomyopathy in the Dobermann. *Gene*, **340**, 241-249.
- STABEJ P, LEEGWATER PA, STOKHOF AA, PETRIC AD, VAN OOST BA (2005). Evaluation of the phospholamban gene in purebred large-breed dogs with dilated cardiomyopathy. *Am. J. Vet. Res.*, **66**, 432-436.
- STARKEY MP, SCASE TJ, MELLERSH CS, MURPHY S (2005). Dogs really are man's best friend – canine genomics has applications in veterinary medicine. *Brief. Funct. Genomic Proteomic*, **4**, 112-128.
- STEPHENSON HM, FONFARA S, LOPEZ-ALVAREZ J, CRIPPS P, DUKES-MCEWAN J (2012). Screening for dilated cardiomyopathy in Great Danes in the United Kingdom. *J. Vet. Intern. Med.*, **26**, 1140-1147.
- STUURMAN N, HEINS S, AERI U (1998). Nuclear lamins, their structure, assembly and interactions. *J. Struct. Biol.*, **122**, 42-66.
- SUTTER NB, OSTRANDER EA, (2004). Dog star rising : the canine genetic system. *Nat. Rev. Genet.*, **5**, 900-910.
- SUTTER NB, EBERLE MA, PARKER HG, PULLAR BJ, KIRKNESS EF, KRUGLYAK L *et al.* (2004). Extensive and breed-specific linkage disequilibrium in *Canis familiaris*. *Genome Res.*, **14**, 2388-2396.
- THOMAS A. La cardiomyopathie dilatée du chien : résultats de l'étude européenne LUPA. (Mise à jour le 02/05/2013). In : *Académie vétérinaire de France* [http://www.academie-veterinaire-defrance.org/fileadmin/user_upload/pdf/pdf_2013/Thomas.pdf] (Consulté le 20/09/14).
- TIDHOLM A, JONSSON L (1996). Dilated cardiomyopathy in the Newfoundland : a study of 37 cases (1983-1994). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **32**, 465-470.
- TREHIOU-SECHI E, TISSIER R, GOUNI V, MISBACH C, PETIT AM, BALOUKA D *et al.* (2012). Comparative echocardiographic and clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in 5 breeds of cats : a retrospective analysis of 344 cases (2001-2011). *J. Vet. Intern. Med.*, **26**, 532-541.

- UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA (UPEN) SECTION OF MEDICAL GENETICS. Juvenile dilated cardiomyopathy (JDCM) linked marker DNA test submission form.
(Mise à jour le 18/10/07). In : *University of Pennsylvania*. [en ligne].
[<http://research.vet.upenn.edu/LinkClick.aspx?fileticket=B%2BWZwz2UBIk%3D&tabid=91&mid=943>] (Consulté le 12/10/14).
- VAN VLEET JF, FERRANS VJ, WEIRICH WE (1980). Pathologic alterations in hypertrophic and congestive cardiomyopathy of cats. *Am. J. Vet. Res.*, **41**, 2037-2048.
- VETERINARY GENETIC SERVICES (VETGEN). Doberman Pinscher dilated cardiomyopathy.
(Mise à jour en 2014). In : *Veterinary Genetic Services*. [en ligne].
[<http://www.vetgen.com/canine-dcm.html>] (Consulté le 12/10/14).
- VOLLMAR A (2000). The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound : a clinical study of 500 dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **36**, 125-132.
- VOLLMAR A, FOX PR, MEURS KM, LIU SK (2003). Dilated cardiomyopathy in juvenile Doberman Pinschers. *J. Vet. Cardiol.*, **5**, 23-27.
- WADE, CM (2011). Inbreeding and genetic diversity in dogs : results from DNA analysis. *Vet. J.*, **189**, 183-188.
- WAYNE, RK, OSTRANDER, EA (2007). Lessons learned from the dog genome. *Trends Genet.*, **23**, 557-567.
- WERNER P, RADUCHA MG, PROCIUK U, SLEEPER MM, HENTHORN PS (2008). A Novel locus For dilated cardiomyopathy maps to canine chromosome 8. *Genomics*, **91**, 517-521.
- WESS G, SCHULZE A, BUTZ V, SIMAK J, KILLICH M, KELLER LJM *et al.* (2010a). Prevalence of dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers in various age groups. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 533-538.
- WESS G, SIMAK J, MAHLING M, HARTMANN K *et al.* (2010b). Cardiac Troponin I in Doberman Pinschers with cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 843-849.
- WESS G, SCHINNER C, WEBER K, KUCHENHOFF H, HARTMANN K.(2010c). Association of A31P and A74T polymorphisms in the Myosin Binding Protein C3 gene and hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon and other breed cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 527-532.
- WESS G, BUTZ V, MAHLING M, HARTMANN K (2011). Evaluation of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a diagnostic marker of various stages of cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Am. J. Vet. Res.*, **72**, 642-649.
- WIERSMA AC, STABEJ P, LEEGWATER PA, VAN OOST BA, OLLIER WE, DUKES-MCEWAN J (2008). Evaluation of 15 candidate genes for dilated cardiomyopathy in the Newfoundland dog. *J. Hered.*, **99**, 73-80.

LE DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DES MYOCARDIOPATHIES CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES

NOM : POISSONNIER

Prénom : Camille

Résumé :

Les myocardiopathies (maladies affectant le muscle cardiaque) sont des cardiopathies prédominantes chez un certain nombre de races canines et félines, représentant à la fois des enjeux importants pour l'élevage et le bien-être animal. Ces maladies peuvent être très graves cliniquement et conduire à une diminution marquée de l'espérance et de la qualité de vie de l'animal. Les propriétaires d'animaux de race et les éleveurs sont donc demandeurs de diagnostic précis et de dépistage précoce des animaux appartenant à des lignées à risque.

L'objectif de ce travail était de faire la synthèse des connaissances actuelles concernant le déterminisme génétique des myocardiopathies chez les carnivores domestiques : la myocardiopathie dilatée chez les chiens de grandes races, la myocardiopathie arythmogène droite chez le Boxer, et la myocardiopathie hypertrophique chez le chat.

Après avoir rappelé les bases de génétique sur lesquelles se fonde l'étude du déterminisme moléculaire des myocardiopathies, l'auteur décrit, dans une deuxième partie, les gènes impliqués dans le fonctionnement du cœur chez les mammifères ainsi que le déterminisme génétique des myocardiopathies chez l'homme.

Dans une troisième partie, les connaissances actuelles concernant les modalités de transmission des différentes myocardiopathies et les gènes connus sont détaillés, par race touchée (Boxer, Doberman, Dogue Allemand, Lévrier Irlandais, chien d'Eau Portugais, Terre-Neuve, Maine Coon, Ragdoll, British Shorthair, Sphynx, American Shorthair, Persan).

Dans une quatrième partie sont d'abord abordés les tests génétiques développés pour mettre en évidence des mutations à l'origine de ces myocardiopathies, leur utilité et leurs limites. Les conduites à tenir en élevage canin et félin afin de limiter la prévalence des myocardiopathies héréditaires sont ensuite détaillées, en fonction des différents modes de transmission de ces maladies et dans les différentes races présentées.

Enfin l'auteur décrit, dans une dernière partie, les raisons pour lesquelles les carnivores domestiques sont d'excellents modèles pour l'étude des myocardiopathies chez l'homme et pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Mots clés

**CARDIOLOGIE – DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE – MYOCARDIOPATHIE – DIAGNOSTIC –
DÉPISTAGE – ÉLEVAGE – THÉRAPIE GÉNÉTIQUE – CARNIVORE – CHIEN – CHAT**

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Dr Marie ABITBOL

Assesseur : Pr Valérie CHETBOUL

GENETIC ORIGIN OF MYOCARDIOPATHIES IN SMALL COMPANION ANIMALS

SURNAME : POISSONNIER

Given name : Camille

Summary

Cardiomyopathies are myocardial diseases affecting an important number of canine and feline breeds. Their effects in specific predisposed breeds regarding breeding and animal welfare are important. These heart diseases may be clinically very severe, leading to a decrease in life expectancy and quality of life of the animals. Therefore, owners and breeders request tools to get the most accurate diagnosis and the earliest detection of these pathological conditions.

The objective of this thesis was to assess the current knowledge regarding the genetic origin of cardiomyopathies in small companion animals, i.e. dilated cardiomyopathy in large breed dogs, arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Boxers, and hypertrophic cardiomyopathy in cats.

The author first presents the genetic basis of techniques to demonstrate the genetic origin of cardiomyopathies. Then, the main genes involved in the heart function in mammals are described, and the genetic origin of cardiomyopathies in humans is specified.

In a third part, the author presents the current knowledge on the genetic transmission and origin of cardiomyopathies in different canine and feline breeds and for different types of cardiomyopathies. Those characteristics are described breed by breed (Boxer, Dobermann, Great Dane, Irish wolfhound, Portuguese Water Dog, Newfoundland, Maine Coon, Ragdoll, British Shorthair, Sphynx, American Shorthair, Persian).

In a fourth part, the author describes the different tests available to detect the different mutations causing cardiomyopathies in cats and dogs. The author details the usefulness and the limits of those tests when they are used to regulate feline and canine breeding. The breeding strategies to limit the increase in genetic cardiomyopathies are detailed in general, and for each studied breed.

Finally, the author presents the reasons why dogs and cats represent an excellent model to study cardiomyopathies in humans and to develop new therapeutic strategies.

Keywords

CARDIOLOGY – GENETIC DETERMINISM – CARDIOMYOPATHY – DIAGNOSIS – SCREENING – BREEDING – GENE THERAPY – CARNIVORE – DOG – CAT

Jury :

President : Pr.

Director : Dr. Marie Abitbol

Assessor : Pr. Valérie Chetboul