

Année 2016



**MISE AU POINT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE
D'ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ DES CHIENS
GRMD À L'AIDE DE L'ACTIMÉTRIE**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le...19.janvier 2016

par

Natacha, Véronique, Madeleine PELLEGRINO

Né (e) le 20 juin 1990 à Soissons (Aisne)

JURY

Président : Pr. DE LA TAILLE

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Mr Stéphane BLOT

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Assesseur : Mme Caroline GILBERT

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Invité : Dr Inès Barthélémy-Jouanna

Année 2016



**MISE AU POINT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE
D'ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ DES CHIENS
GRMD À L'AIDE DE L'ACTIMÉTRIE**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le.....

par

Natacha, Véronique, Madeleine PELLEGRINO

Né (e) le 20 juin 1990 à Soissons (Aisne)

JURY

Président : Pr.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Mr Stéphane BLOT

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Assesseur : Mme Caroline GILBERT

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Invité : Dr Inès Barthélémy-Jouanna

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, M. COURREAU Jean-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 : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

<p>UNITE DE CARDIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier <p>UNITE DE CLINIQUE EQUINE</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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, Praticien hospitalier <p>UNITE D'IMAGERIE MEDICALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier <p>UNITE DE MEDECINE</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 <p>UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 	<p>DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PARAGON Bernard, Professeur <p>DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences <p>UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Mme RISCO CASTILLO Véronica, Maître de conférences (rattachée au DSBP) <p>UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur * - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier <p>DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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

<p>UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur <p>UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel <p>UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur - Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences - Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier 	<p>UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 <p>UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, 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 : M. CHATEAU Henry, Professeur - Adjoint : Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences

<p>UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. CHATEAU Henry, Professeur* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences <p>UNITE DE BACTERIOLOGIE, IMMUNOLOGIE, VIROLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur* - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur <p>UNITE DE BIOCHIMIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié <p>DISCIPLINE : ETHOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences <p>UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur* 	<p>UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 <p>UNITE DE MANAGEMENT, COMMUNICATION, OUTILS SCIENTIFIQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié (Anglais) - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences (Biostatistiques, épidémiologie)* - Mme FOURNEL Christelle, Maître de conférences contractuel (Gestion et management) <p>UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* <p>UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Professeur *
---	--

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

À notre Président de thèse, Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,
qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre Jury de Thèse.
Hommages respectueux.

À **Mr Blot** , Professeur de neurologie à l'ENVA,
Pour nous avoir permis l'élaboration de ce travail
et pour avoir dirigé cette thèse.

À **Mme Gilbert**, Professeur d'éthologie à l'ENVA,
Pour avoir accepté d'être notre assesseur de thèse,
nous avoir aidé dans la réalisation du protocole et permis sa mise en place
en fournissant une partie du matériel.

À **Inès**, qui m'a aidée pas à pas à réaliser cette thèse, et sans qui je n'aurai jamais pu avancer. Merci pour tout le temps que tu m'as consacré !!

À **M. Desquilbet**, pour sa disponibilité.

À ma **famille**, mes parents, grands-parents, ma tante et mon cousin, qui m'ont soutenue tout le long de ces 7 années d'études, et surtout durant les 2 années de prépa.

À mes **amis**, ce formidable groupe clinique, le **6mouth**, tant de bons moments passés ensemble et tellement encore à venir, c'est vous qui avez rendu ces 5 années à l'école aussi folles que possible !!

À mon **ANCIENNE**, qui m'a montré les ficelles de l'école, et qui est devenue une amie proche !

À mes petits **poulots**, qui vont bientôt devenir grands à leur tour, et qui m'ont laissé jouer la grande méchante en me laissant croire que j'étais crédible !

TABLE DES MATIÈRES

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux.....	7
Liste des abréviations.....	9
INTRODUCTION.....	11
PREMIERE PARTIE.....	13
I Étude de la Dystrophie Musculaire de Duchenne.....	13
1) Épidémiologie et pathogénie.....	13
2) Expression clinique.....	17
3) Modifications histologiques.....	19
4) Méthodes d'évaluation des patients.....	20
a) Scores cliniques.....	20
i) La Vignos Lower Extremity Scale et la Brooke Upper Extremity Functional Rating Scale.....	20
ii) La North Star Ambulatory Assessment.....	20
iii) La Mesure de Fonction Motrice.....	20
iv) La Hammersmith SMA Functional Motor Scale.....	21
v) La Egan Klassification scale.....	21
vi) La Gross Motor Function Measure.....	21
b) Tests de performance motrice chronométrés.....	22
c) Évaluation des forces musculaires.....	22
d) Évaluation de la fonction respiratoire.....	24
e) Évaluation de la qualité de vie.....	25
4) Gestion médicale et avancées de la recherche.....	25
a) Utilisation des glucocorticoïdes.....	25
b) L'apport de la physiothérapie.....	26
c) Soutien de la fonction respiratoire.....	26
d) La recherche : thérapies innovantes.....	27
i) Restauration d'une dystrophine complète.....	27
ii) Restauration d'une quasi-dystrophine.....	27
iii) Actions contre les mécanismes pathologique de la DMD.....	29
II Présentation des différents modèles animaux et intérêt du modèle GRMD.....	31
1) Les modèles animaux de DMD.....	31
a) La souris.....	31
b) Le chat.....	32
c) Le chien.....	33
2) Le modèle GRMD en détail.....	35
a) Mutation causale.....	35
b) Formes cliniques.....	35
i) La forme fulminante.....	35
ii) Forme classique.....	36
b) Lésions musculaires macroscopiques et microscopiques.....	38
i) Forme fulminante.....	38
ii) Forme classique.....	38
3) Méthodes d'évaluation du chien GRMD.....	39
a) Évaluation de la force musculaire.....	39
b) Évaluation de la fonction cardiaque.....	40
c) Grille de score clinique.....	41
d) Mesure de l'angle des articulations.....	41
e) Imagerie par Résonance Magnétique.....	41
f) Analyse de marche.....	42
i) Cinématique.....	42

ii) Cinétique-tapis de marche.....	44
iii) Accélérométrie.....	45
III Méthodes d'analyse de l'activité.....	47
1) L'accélérométrie chez l'homme.....	47
2) L'actimétrie chez le chien.....	50
3) L'actimétrie chez le chien dystrophique.....	52
DEUXIEME PARTIE.....	55
I Matériel.....	55
1) Animaux.....	55
a) Évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD.....	55
b) Comparaison de deux conditions d'expérimentation : effet de l'espace alloué.....	56
c) Suivi longitudinal de l'activité des chiens.....	57
2) Locaux.....	58
a) Évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD.....	58
b) Comparaison de deux conditions d'expérimentation : effet de l'espace alloué.....	58
c) Suivi longitudinal de l'activité des chiens.....	59
3) Équipement.....	59
II Méthode.....	61
1) Déroulement d'une séquence de mesure.....	61
a) Évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD.....	61
b) Comparaison de deux conditions d'expérimentation : effet de l'espace alloué.....	62
c) Suivi longitudinal de l'activité des chiens.....	63
2) Actimétrie par accélérométrie.....	65
3) Analyse vidéo par « scans » : une méthode d'actimétrie alternative ?.....	65
4) Création d'abaques pour chaque comportement.....	69
5) Tests statistiques.....	71
a) Accélérométrie.....	71
i) Différence d'activité GRMD vs Sains.....	71
ii) Répétabilité des mesures.....	72
iii) Influence de la taille de la cage.....	72
iv) Suivi des animaux au cours de leur premiers mois de vie.....	72
b) Comparaison accélérométrie et « scans » vidéo.....	72
III Résultats.....	73
1) Accélérométrie.....	73
a) Différence d'activité GRMD vs Sains.....	73
b) Répétabilité des mesures.....	74
c) Influence de la taille de la cage.....	76
d) Suivi des animaux au cours de leurs premiers mois de vie.....	76
2) Comparaison accélérométrie / vidéo.....	79
a) Évaluation de l'analyse par « scans » vidéo comme méthode d'actimétrie.....	79
b) Évaluation d'une méthode d'estimation de l'activité à partir d'un abaque de comportements et des « scans » vidéo.....	81
IV Discussion.....	85
1) Différence sains versus GRMD.....	85
2) Méthode alternative avec l'utilisation de « scans » vidéo et des abaques.....	86
3) Augmentation de l'activité liée à la superficie de la salle.....	86
4) Variation de l'activité au cours des jours de la semaine.....	87
CONCLUSION.....	89
BIBLIOGRAPHIE.....	91
ANNEXES.....	102
Annexe 1 : Grille de score de la « Vignos Lower Extremity Scale ».....	102
Annexe 2 : Grille de score de la « Brooke Upper Extremity Functional Rating Scale ».....	102

Annexe 3 : Grille de score de la « North Star Ambulatory Assessment »	103
Annexe 4 : Grille de score de la « Motor Function Measure »	104
Annexe 5 : Grille de score de la « Hammersmith SMA functional motor scale ».....	109
Annexe 6 : Grille de score de la « Gross Motor Function Measure »	110
Annexe 7 : Mouvements à réaliser pour tester la force musculaire chez les patients atteint de DMD.....	115
Annexe 8 : Grille de score clinique des chiens GRMD.....	116
Annexe 9 : Poster décisionnel pour la sous-partie « digestif et respiratoire ».....	117
Annexe 10 : Poster décisionnel pour la sous-partie « locomoteur ».....	118

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de la dystrophine.....	14
Figure 2 : La place de la dystrophine.....	15
Figure 3 : Représentation schématisée de la répartition en immunohistochimie de la dystrophine.....	16
Figure 4 : Signe de Gowers.....	17
Figure 5 : Diagramme récapitulatif de la démarche diagnostique de DMD.....	18
Figure 6 : Illustration des positions réalisées pour mesurer les angles du « Range and motion testing ».....	23
Figure 7 : Exemple d'une orthose genou-cheville-pied.....	26
Figure 8 : Chat HFMD.....	33
Figure 9 : Chiens GRMD présentant différents degrés d'atteinte de la maladie.....	37
Figure 10 : Position du chien dans l'appareil stéréotaxique lors de mesure de force.....	40
Figure 11 : Positionnement des 3 marqueurs articulaires.....	42
Figure 12 : Vue oblique de la salle et transformation de l'image.....	44
Figure 13 : Positionnement du dispositif sur l'animal et axes de mesure des accélérations.....	46
Figure 14 : Exemple de 2 positions possibles d'un accéléromètre.....	48
Figure 15 : Différentes localisations possibles pour l'accéléromètre chez le chien.....	51
Figure 16 : Position de la caméra et exemple de traitement des images par le logiciel.....	53
Figure 17 : Présentation de la pièce utilisée pour les mesures.....	58
Figure 18 : Dispositif de fixation de l'accéléromètre au harnais.....	60
Figure 19 : Exemple de Iop (chien GRMD avec l'équipement).....	60
Figure 20 : Positionnement de la caméra.....	61
Figure 21 : Plan des locaux, et chemin emprunté avec les chiens.....	64
Figure 22 : Exemple d'un des « scans » réalisés.....	66
Figure 23 : Représentation graphique des données d'accélérométrie ayant permis de réaliser les abaques des comportements.....	70
Figure 24 : Histogramme des moyennes des activités mesurées par accélérométrie, des groupes sains et GRMD associé à leurs intervalles de confiance.....	74
Figure 25 : Moyenne et intervalle de confiance de l'activité sur 1h40 jour par jour pour tous les chiens.....	75
Figure 26 : Moyenne et intervalle de confiance de l'activité sur 1h40 jour par jour pour le groupe des chiens GRMD.....	75
Figure 27 : Moyenne et intervalle de confiance à 95 % de l'activité mesurée par accélérométrie sur 1h40 des chiens testés dans leur cage versus dans la pièce de test.....	76
Figure 28 : Évolution du niveau d'activité des 16 chiens sur 10 mois.....	77
Figure 29 : Évolution du niveau d'activité des 4 chiens sains sur 10 mois.....	78
Figure 30 : Évolution du niveau d'activité des 12 chiens GRMD sur 10 mois.....	79
Figure 31 : Droite à 45° entre la méthode de mesure de l'activité via l'accélérométrie et la vidéo permettant d'obtenir le nombre de « scans » actifs sur 15 « scans ».....	80
Figure 32 : Moyenne du nombre de « scans » actifs chiens sains vs chiens GRMD.....	81
Figure 33 : Droite à 45° entre la méthode de mesure de l'activité via l'accélérométrie et celle d'estimation de l'activité via l'abaque mis en place et les « scans » vidéo.....	83
Figure 34 : Graphique de Bland et Altman.....	84

Liste des tableaux

Tableau 1 : Races de chiens dystrophiques et caractérisation / mutation causale.....	34
Tableau 2 : Synthèse des chiens inclus dans le protocole, associé à leur date de passage.....	56
Tableau 3 : Synthèse des chiens inclus dans le suivi longitudinal.....	57
Tableau 4 : Résumé du planning du protocole.....	62
Tableau 5 : Tableau du listing des comportements et des positions rencontrés lors des « scans », exemple de la semaine d'Haribo.....	67
Tableau 6 : Exemple des différents comportements classés en actif, non actif et autre pour la semaine de mesure d'Haribo.....	68
Tableau 7 : Valeurs accélérométriques obtenues sur une seconde pour chaque comportement recherché.....	82

Liste des abréviations

AAV : Adéno-Associated-Virus
ADN : Acide Désoxyribo-nucléique
ADNc : Acide Désoxyribo-nucléique complémentaire
ANOVA : ANalysis Of VAriance
ARN : Acide Ribo-nucléique
ASAT : Aspartates amino-transférases
BEM : Besoin Énergétique de Maintenance
CINRG : Cooperative International Neuromuscular Research Group
CK : Créatines kinases
CRISPR/Cas9 : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CXMD_j : Canine X-Linked Muscular Dystrophy japonais
CVF : Capacité Vitale Forcée
DAPC : dystrophin-associated protein complex
DEP : Débit Expiratoire de Pointe
DMD : Dystrophie Musculaire de Duchenne
DMB : Dystrophie Musculaire de Becker
EPO : Érythropoïétine
EK : Egan Klassification scale
ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Gd-DTPA : Gadolinium-Diethylene Triamine Pentacetate
GMFM :Gross Motor Function Measure
GRMD : Golden Retriever Muscular Dystrophy
HSFM : Hammersmith SMA functional motor scale
HFMS :Hammersmith Functional Motor Scale for SMA
HFMD : Hypertrophic Feline Muscular Dystrophy
IC_{95%} : Intervalle de Confiance à 95%
IB : Inès Barthélémy
LRMD : Labrador Retriever Muscular Dystrophy
mdx : X-linked Muscular Dystrophy mouse
MFM : Mesure de Fonction Motrice
MD : Marion Davidson
nNOS : neuronal Nitric Oxyde Synthase
NSAA :North Star Ambulatory Assessment
PIM : Pression Inspiratoire Maximale
PedsQL : Pediatric Quality of Life Questionnaire
PEM : Pression Expiratoire Maximale
QMT : Quantitative Muscular Testing
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
RPGR : Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator
TALENS : Transcription Activator-Like Effector Nucleases
UETM : Unité d'Étude et de Thérapie des Myopathes
VEMS : Volume Expiratoire Maximal par Seconde
VM : Vecteur Magnitude
WHOQOL : World Health Organization Quality Of Life Assasment
9-HPT : 9-Hole Peg Test
(x, y, z) : x => valeur de l'accélération suivant l'axe dorso-ventral
y => valeur de l'accélération suivant l'axe antéro-postérieur
z => valeur de l'accélération suivant l'axe médio-latéral

INTRODUCTION

La Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie liée à l'X qui touche une sur 4700 naissance de garçon (Emery, 1993; Dooley *et al.*, 2010). Récessive, elle touche principalement les hommes. Les femmes sont le plus souvent porteuses saines, mais peuvent cependant présenter quelques symptômes, qui impliquent le plus souvent la fonction cardiaque.

Les jeunes garçons vont d'abord présenter un retard dans l'apprentissage de la marche, des difficultés pour courir, sauter, des chutes fréquentes. La faiblesse musculaire continuant à s'accroître, les patients seront contraints à l'usage permanent du fauteuil roulant avant l'âge de 13 ans. Les malades détectés tôt peuvent maintenant espérer vivre jusqu'à l'âge de 40 ans grâce aux mesures médicales mises en place, telles que l'administration de corticoïdes (Bushby *et al.*, 2010). Les symptômes de la DMD sont dus à l'absence de dystrophine musculaire (protéine indispensable au fonctionnement de la fibre musculaire) (Eduardo Bonilla *et al.*, 1988).

Dans le but d'augmenter l'espérance de vie des malades, et d'améliorer leur qualité de vie de nouveaux traitements, utilisant la thérapie génique et/ou cellulaire mais aussi pharmacologique, sont en cours d'exploration. Parmi les pistes les plus prometteuses, la thérapie génique basée sur le saut d'exon a pour objectif de restaurer le cadre de lecture du gène de la dystrophine. La dystrophine obtenue sera certes plus courte, car privée de la partie protéique codée par l'exon sauté, mais fonctionnelle et bien exprimée dans les fibres musculaires. En effet, seuls certains domaines sont indispensables à l'obtention d'une dystrophine fonctionnelle, et leur expression est permise par la restauration du cadre de lecture (Vulin *et al.*, 2012a).

Ces traitements sont d'abord réalisés expérimentalement sur des modèles animaux, tels que la souris *mdx*, ou dans un second temps le chien GRMD (Golden Retriever Muscular Dystrophy). Le chien GRMD est le modèle le plus pertinent de la DMD, du fait des signes cliniques proches et de la taille de ce modèle (Valentine *et al.*, 1988b; Nakamura et Takeda, 2011).

Les essais pré-cliniques réalisés sur ces chiens ont recours à différentes techniques pour mettre en évidence l'efficacité d'un traitement : évaluation de l'état clinique via une grille de score clinique (Cordazzo, 2007), évaluation de la démarche via l'accélérométrie (Barthélémy et Thibaud, 2012), évaluation de la fonction musculaire via la mesure de la force musculaire (Kornegay *et al.*, 1999), évaluation de l'atteinte cardiaque via l'échocardiographie (Chetboul *et al.*, 2004a), évaluation de la structure musculaire via l'histologie ou l'IRM (Valentine *et al.*, 1990a; Thibaud *et al.*, 2007; Thibaud *et al.*, 2012 ; Barthélémy et Thibaud, 2012).

Au sein de l'Unité d'Étude et de Thérapie des Myopathies (UETM) canines de l'ENVA, les essais thérapeutiques sont réalisés sur des chiens GRMD et c'est dans ce laboratoire qu'a été développée l'évaluation de la démarche via l'accélérométrie. Et même si cette technique y est toujours utilisée, elle présente un inconvénient : pour que la démarche puisse être étudiée, les chiens doivent réaliser une séquence de 10 secondes de marche régulière et ininterrompue. Or pour des chiens atteints de manière importante ceci est impossible (parfois ils ne peuvent marcher que 5 secondes puis ils s'arrêtent, et repartent au bout de 10 secondes, ou parfois même les animaux sont incapables de marcher). Ces chiens doivent donc être sortis de l'étude ce qui provoque une perte importante d'information et de puissance statistique, lorsque l'analyse de marche constitue le critère d'évaluation principale d'un essai pré-clinique (Barthélémy et Thibaud, 2012).

Le but du travail qui suit est de réussir à quantifier le niveau d'activité des chiens, qu'ils soient ou non capables de marcher, et que ceci soit le reflet de la qualité de vie des chiens. En cela nous nous rapprocherions de ce qui est fait chez les patients DMD et ceci nous permettrait de continuer à évaluer les chiens quel que soit leur statut ambulatoire.

La DMD est une maladie reconnue depuis une centaine d'années, et les connaissances sur cette maladie n'ont cessé d'évoluer (Emery, 1993). Dans une première partie, nous allons décrire cette maladie. Puis nous allons exposer plus en détail pourquoi le chien GRMD est le modèle animal le plus pertinent pour des applications pré-cliniques comparé aux autres pour la DMD. Et enfin nous présenterons les différentes techniques possibles pour évaluer l'activité des chiens GRMD.

PREMIERE PARTIE

I Étude de la Dystrophie Musculaire de Duchenne

Plusieurs peintures murales égyptiennes peuvent laisser supposer que la DMD (dystrophie musculaire de Duchenne) était déjà présente en Égypte ancienne, mais la première réelle description clinique a été réalisée par Charles Bell en 1830 dans *The nervous system of the human body* où il y décrit un jeune homme de 18 ans présentant une amyotrophie, ainsi qu'une faiblesse des quadriceps et ce depuis 8 ans. Ce jeune homme présentait des difficultés pour se relever, mais aucune perte sensitive. C'est en 1852 qu'Edward Meryon met en évidence l'origine musculaire et non pas nerveuse de cette maladie, et ce grâce à des études cliniques et histologiques. Elles ont été surpassées par celles de Duchenne de Boulogne, en 1861, qui a réalisé ses études histologiques sur des biopsies provenant de patients et non de cadavres, ce qui lui a permis d'étudier l'évolution de la maladie chez ses patients. C'est en 1891 que Wilhelm Heindrich Erb tente de mettre en place une première classification des dystrophies (Emery, 1993). Ce n'est qu'en 1986 que le gène a été identifié et nommé DMD, et en 1987 que la dystrophine, protéine dont l'absence est à l'origine de la maladie, l'a été (Monaco *et al.*, 1986 ; Hoffman *et al.*, 1987).

1) Épidémiologie et pathogénie

La DMD est une maladie qui affecte quasi exclusivement les garçons, les femmes étant généralement porteuses asymptomatiques de la mutation.

Au cours des 30 dernières années la fréquence de la DMD est restée stable, elle touche une naissance de garçon sur 4700 (Dooley *et al.*, 2010).

Deux tiers des cas proviennent d'une transmission récessive liée à l'X et un tiers des cas sont dus à l'apparition d'une nouvelle mutation (Anthony *et al.*, 1987). Dans le premier cas la mère est porteuse saine car il s'agit d'une maladie récessive, dans le second cas une nouvelle mutation survient soit au niveau des gamètes soit de l'embryon.

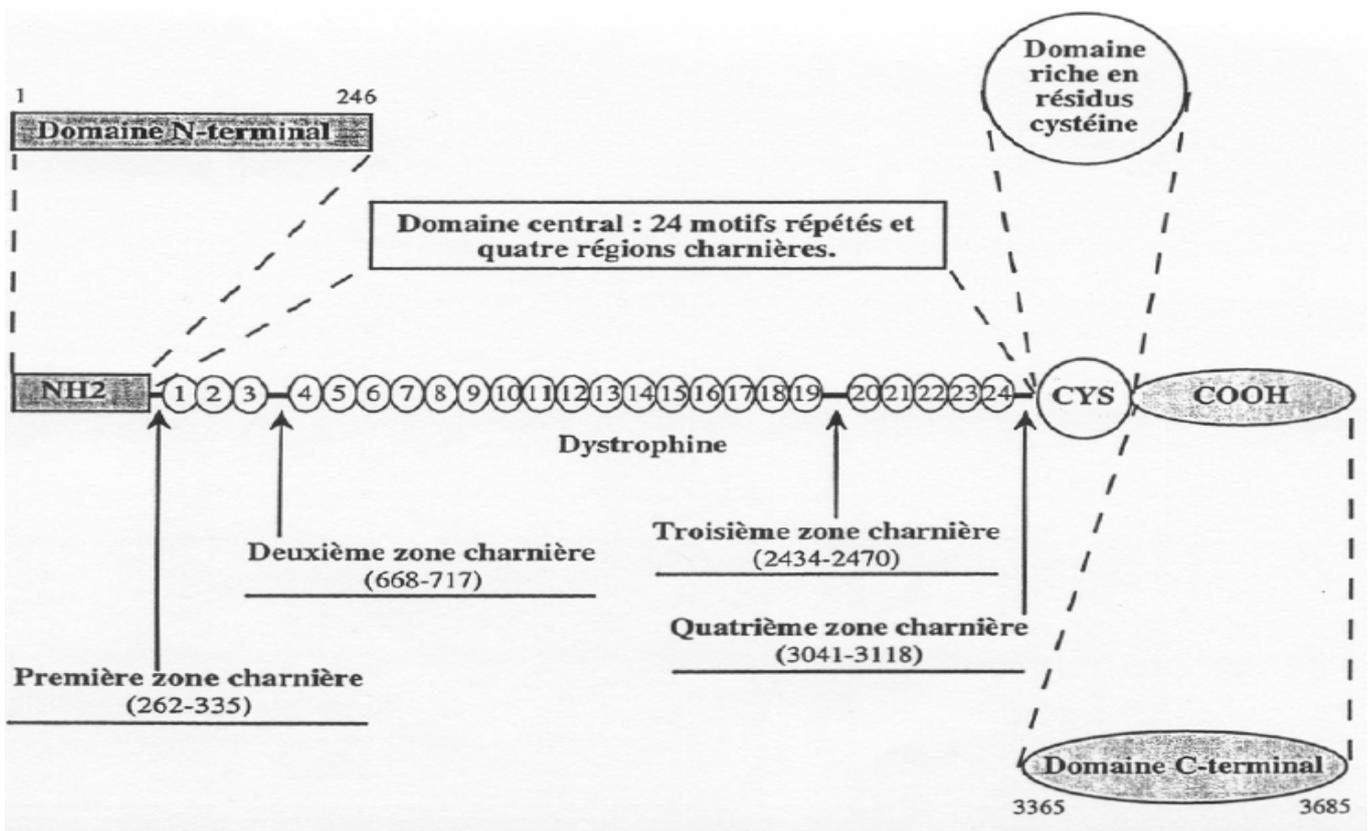
La mutation touche le gène DMD, situé sur la bande Xp21 du bras court du chromosome X, qui est l'un des plus grands gènes humains : il contient approximativement 2,5 millions de paires de bases et 79 exons. Le taux de mutation important concernant ce gène est probablement d'ailleurs lié à sa taille (Emery, 1993). Les mutations qui surviennent peuvent être non-sens, faux-sens, être dues à une délétion, une insertion ou encore une duplication. Lorsque ces mutations entraînent un décalage du cadre de lecture on obtient des phénotypes sévères de DMD, en effet ce décalage est responsable de la présence d'un codon stop prématuré, et donc de la production d'une dystrophine tronquée et non fonctionnelle. Alors que si la mutation ne décale pas le cadre de lecture, le phénotype produit sera moins sévère et correspondra à une DMB (Dystrophie Musculaire de Becker), car il y aura production d'une dystrophine anormale, mais partiellement fonctionnelle (Anthony *et al.*, 1987; Nakamura et Takeda, 2011; Emery, 1993). Les mutations qui provoquent la DMD sont le plus souvent des délétions touchant préférentiellement deux régions : celles des exons 3 à 7 et 45 à 55 du gène DMD (Nakamura et Takeda, 2011).

Le gène DMD est aussi à l'origine de nombreuses isoformes de la dystrophine comme son isoforme cérébrale ou encore rétinienne (Emery, 1993).

L'isoforme musculaire de la dystrophine est une protéine de 427 kDa, encodée par le gène

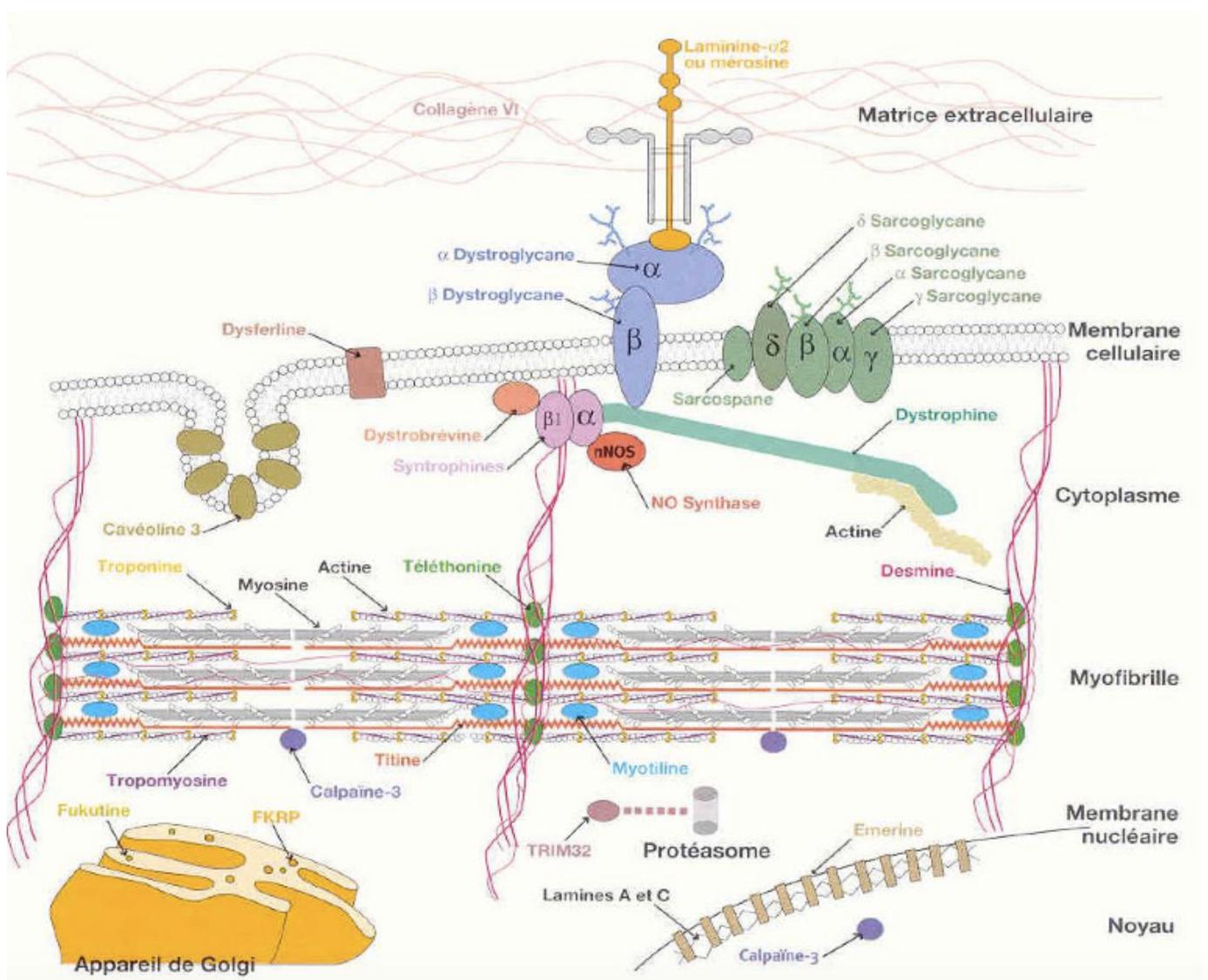
DMD, qui comporte 4 domaines (représentés en figure 1). Elle est localisée en zone subsarcolemmale. Elle y forme un complexe, dit DAPC (« dystrophin-associated protein complex »), avec de nombreuses protéines, dont font entre autres partie les dystroglycanes, sarcoglycanes et la syntrophine, elles-mêmes impliquées dans d'autres processus dystrophiques, et reliées à la laminine de la matrice extra-cellulaire de la fibre musculaire. La partie N-terminale de la dystrophine interagit avec l'actine, ce qui permet de stabiliser la membrane lors de contractions musculaires (Nakamura et Takeda, 2011 ; Emery, 1993). La dystrophine constitue un lien entre le cytosquelette (actine) et la matrice extracellulaire (laminine), et peut par là même jouer un rôle d'amortisseur lors de l'étirement de la fibre musculaire (Le Rumeur *et al.*, 2010). Elle joue également un rôle dans le maintien de l'équilibre calcique, la vasodilatation, ainsi que l'oxygénation et le transport de métabolites, par son interaction avec la nNOS (neuronal Nitric Oxyde Synthase) et les canaux calciques (Yeung *et al.*, 2005; Le Rumeur *et al.*, 2010). La figure 2 représente les interactions de la dystrophine avec ces molécules.

Figure 1 : Schéma de la dystrophine



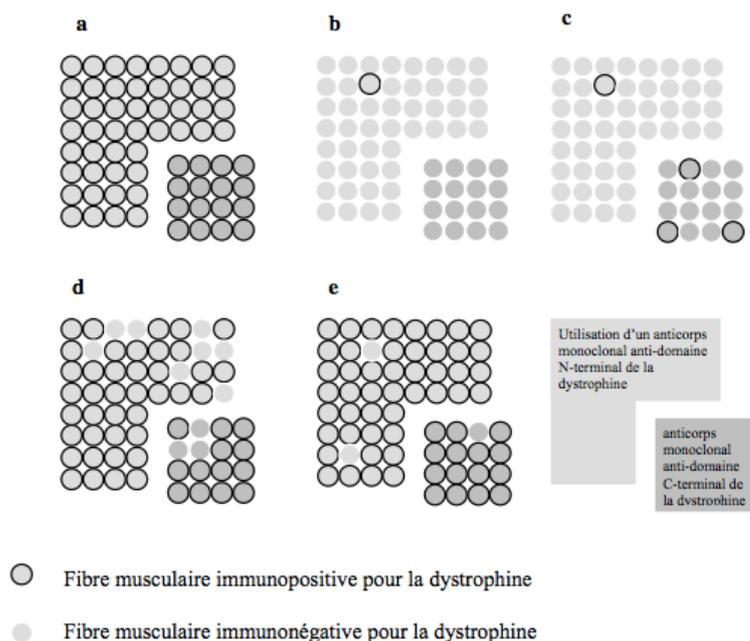
La dystrophine est composée de quatre domaines structuraux : le domaine N-terminal et le domaine central (analogues aux domaines correspondants de la bêta-spectrine), le domaine riche en cystéine et le domaine C-terminal. Trois de ces domaines (N-terminal, central répété et C-terminal) sont susceptibles de se lier à la F-actine du cytosquelette des fibres musculaires (Nguyen, 2001) adapté de (Koenig et Kunkel, 1990; Léger et al., 1991; Sadoulet-Puccio et Kunkel, 1996).

Figure 2 : La localisation de la dystrophine et ses interactions (Cordazzo, 2007)



Lorsque le gène DMD est muté, la dystrophine est alors altérée, et n'est plus (DMD) ou peu (DMB) exprimée au sarcolemme, comme le montre la figure 3 (E. Bonilla *et al.*, 1988). Cette absence de dystrophine entraîne une cascade d'évènements liés à son rôle de protection mécanique, mais aussi au dysfonctionnement de la nNOS (neuronal Nitric Oxyde Synthase) qui n'est plus correctement localisée, et a de multiples déficits fonctionnels des canaux ioniques et en particulier calciques (Yeung *et al.*, 2005). En effet, l'absence de dystrophine est aussi accompagnée d'une absence de la nNOS au sarcolemme. La nNOS n'étant pas correctement localisée dans la fibre musculaire d'un patient dystrophique, les régulations qu'elle permet aussi bien concernant la vasodilatation que l'oxygénation et le transport de métabolites ne sont plus possibles. Ceci provoque une hypoxie des cellules musculaires lors de l'effort et participe à la pathogénie de la DMD (Le Rumeur *et al.*, 2010).

Figure 3 : Représentation schématique de la répartition en immunohistochimie de la dystrophine dans le muscle d'individus normaux (a), souffrant de DMD (b, c) ou porteurs de la maladie, symptomatiques (d) ou non (e) (Nguyen, 2001)



- Chez l'individu normal, toutes les myofibrilles sont immunopositives pour la dystrophine, le marquage étant régulier et linéaire le long du sarcolemme.
- Certains individus DMD possèdent des myofibrilles totalement immunonégatives pour la dystrophine, à l'exception de 1% des fibres : les fibres « révertantes ».
- D'autres individus DMD possèdent une proportion modérée de myofibrilles (moins de 25%) positives pour un anticorps anti-domaine C-terminal de la dystrophine.
- Femme porteuse symptomatique : environ 20 % des fibres sont immunonégatives pour la dystrophine.
- Femme porteuse asymptomatique : moins de 5 % des fibres sont négatives pour la dystrophine.

Les fibres musculaires déficientes en dystrophine présentent ainsi une augmentation du calcium intracellulaire. Ceci serait provoqué par une entrée de calcium via les canaux calciques, et cette augmentation du calcium via l'activation de protéases contribuerait à la destruction de la fibre musculaire (Yeung *et al.*, 2005).

De nombreuses preuves tendent à montrer que le système immunitaire jouerait aussi un rôle dans la pathogénie de la DMD. En effet, les lymphocytes T pourraient jouer un rôle important, et participeraient à une réaction auto-immune aggravant les dommages des fibres musculaires (Pinto-Mariz *et al.*, 2010; Spencer et Tidball, 2001).

Ce sont ces différents mécanismes, aggravant la fragilité membranaire liée à l'absence de dystrophine, qui seraient à l'origine du processus de nécroses-régénération qui touche les fibres musculaires des patients atteints de DMD (Le Rumeur *et al.*, 2010; Pinto-Mariz *et al.*, 2010; Spencer et Tidball, 2001; Yeung *et al.*, 2005).

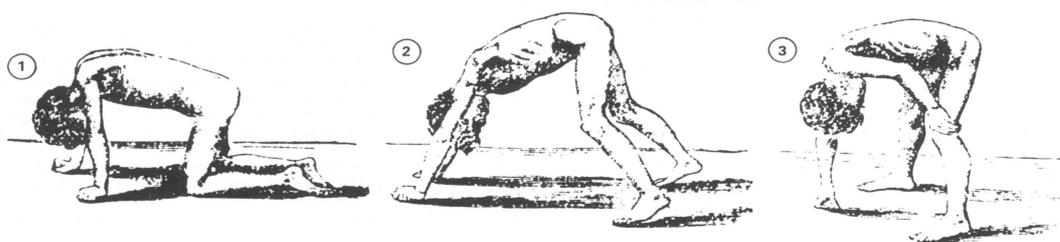
2) *Expression clinique*

Le premier signe présenté par les garçons atteints de DMD est un retard d'apprentissage de la marche, ils l'acquièrent vers 2 ans pour certains alors que les enfants sains savent marcher vers 13 à 20 mois. Souvent le diagnostic n'est pourtant établi que vers l'âge de 3 à 5 ans, lorsque les capacités physiques de l'enfant diffèrent notablement des autres (Bushby *et al.*, 2010; Emery, 1993).

Il a alors des difficultés à courir, monter les marches, et à se relever. Sa démarche est guindée et il tombe fréquemment. Il peut aussi marcher en s'appuyant sur ses orteils au lieu de la plante de ses pieds. Ce que les parents peuvent aussi remarquer c'est une augmentation de la taille des mollets (Emery, 1993). Parfois un retard mental peut être associé, ceci dépendant de l'impact de la mutation sur l'isoforme neuronale de la dystrophine (Desguerre *et al.*, 2009).

Un autre signe caractéristique, apparaissant vers l'âge de 4-5 ans, est le signe de Gowers représenté en figure 4. C'est une manière particulière qu'a l'enfant DMD de se relever : l'enfant prend appui avec les mains sur le sol, puis sur ses cuisses. Ce signe est lié à la faiblesse des muscles extenseurs des genoux et des hanches. Mais même avant l'apparition de ce signe, un enfant atteint de DMD ne sera pas capable de se relever alors qu'il est assis sur le sol s'il doit garder les bras pliés (ne pas les utiliser pour s'appuyer sur le sol ou sur ses cuisses), alors qu'un enfant sain peut le faire facilement (Emery, 1993; Gardner-Medwin, 1980).

Figure 4 : Signe de Gowers

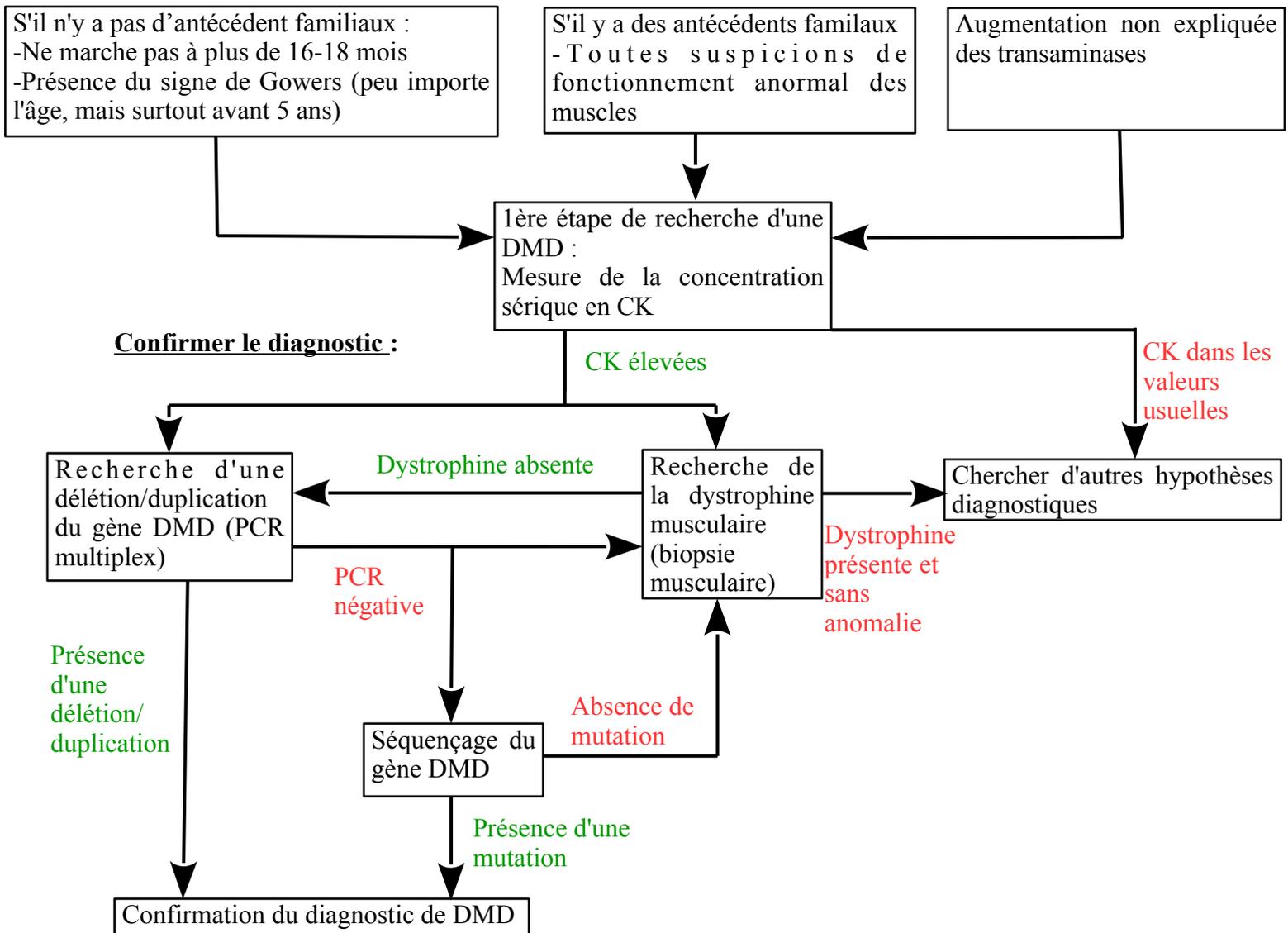


L'enfant doit utiliser ses bras pour se relever en appuyant ses mains sur le sol (1), ce qui l'aide à relever la partie postérieure de son corps (2), puis il prend appui avec ses mains sur ses cuisses pour terminer de se relever (3) (Wallace et Newton, 1989).

Ces différents signes, ainsi qu'une augmentation franche de l'activité sérique des créatines kinases (CK) ou des aspartates amino-transférases (ASAT), conduisent à une suspicion de DMD. Pour confirmer ce diagnostic, il convient de réaliser des PCR multiplex, sur un échantillon de sang, pour rechercher la mutation du gène DMD. Si le résultat n'est pas concluant on peut alors réaliser une biopsie musculaire pour rechercher la dystrophine, si elle est présente obtenir son niveau d'expression, sa taille moléculaire. Un séquençage du gène DMD peut également être réalisé, pour mettre en évidence des mutations plus fines que les importantes délétions qui peuvent être mises en évidence par les PCR multiplex (Bushby *et al.*, 2010). La figure 5 résume la démarche diagnostique de la DMD.

Figure 5 : Diagramme récapitulatif de la démarche diagnostique de DMD (Bushby *et al.*, 2010)

Quand suspecter une DMD :



Par la suite la démarche guidée devient de plus en plus marquée et la raideur s'accroît, des contractures se développent provoquant une lordose lombaire qui devient par la suite très prononcée. Ces contractures touchent aussi les tendons d'Achille, puis au fur et à mesure que la maladie progresse elles atteignent la flexion des genoux, des coudes, des poignets et des hanches. Entre l'âge de 8 et 12 ans, l'enfant se retrouve alors en fauteuil roulant de manière permanente, ce qui fait que les contractures citées précédemment s'accroissent (Emery, 1993; Gardner-Medwin, 1980). Le tissu musculaire se fibrose progressivement et est remplacé par du tissu adipeux (Gardner-Medwin, 1980).

À cela s'ajoutent des complications respiratoires et cardiaques, qui, si elles n'étaient pas traitées, conduiraient à une mort précoce vers l'âge de 19 ans, mais qui, grâce aux progrès de gestion médicale réalisés ces dernières années, a lieu vers 30-40 ans (Bushby *et al.*, 2010).

Les complications respiratoires sont à la fois provoquées par : une faiblesse des muscles diaphragmatiques et intercostaux, ce qui réduit les pressions maximales inspiratoire et expiratoire ; une déformation de la cage thoracique, ce qui réduit le volume pulmonaire (Emery, 1993) ; des bronchopneumonies par fausse déglutition peuvent aussi survenir chez les patients qui présentent des difficultés à s'alimenter (Martigne *et al.*, 2010).

Les complications cardiaques sont mises en évidence à partir de l'âge de 10 ans, et après 18 ans, tous les patients souffrant de DMD sont atteints. On suppose que c'est la fibrose du myocarde qui provoque cette cardiomyopathie dilatée progressive. Il est difficile de la diagnostiquer en se basant sur les symptômes habituels, la fatigue et la diminution de la tolérance à l'effort étant également causés par les problèmes pulmonaires et la faiblesse musculaire. Il est donc conseillé au patient souffrant de DMD de réaliser une échocardiographie annuelle dans le but de contrôler la fonction cardiaque (Van Bockel *et al.*, 2009).

Depuis la mise en place des mesures de soutien de la fonction respiratoire, 10 à 50 % des patients atteints de DMD meurent d'une insuffisance cardiaque (Van Bockel *et al.*, 2009). Ces mêmes cardiopathies sont retrouvées chez 10% des femmes porteuses de la DMD (Emery, 1993).

3) Modifications histologiques

À l'histologie, déjà *in utero*, de discrètes anomalies sont retrouvées : de rares fibres hyperéosinophiliques et hypertrophiées sont présentes sur un fond de muscle normal.

Ces anomalies deviennent significatives avant même l'expression de signes cliniques : une variation importante du diamètre des fibres musculaires, ainsi qu'une augmentation du nombre de fibres de diamètre important rondes et éosinophiliques (qui normalement sont absentes d'un muscle sain ou artéfactuelles) sont notés, ce sont ces mêmes fibres qui à l'aide d'une coloration spécifique montrent une concentration calcique augmentée. On retrouve également une augmentation du nombre de fibres en cours de régénération (ce sont des fibres plus petites, avec un cytoplasme basophile, une concentration importante d'ARN, et qui possèdent un noyau ressemblant à une grande vésicule pâle avec un nucléole de taille importante).

En phase d'état, les lésions vont être composées : de nombreuses fibres en cours de nécrose (fibres hyalines) associées à des fibres en cours de régénération, d'une fibrose d'abord endomysiale puis périmysiale multifocale associée à une infiltration par du tissu adipeux, le pourcentage de fibres aux noyaux centraux dépasse le pourcentage non lésionnel de 3 %. Avec la progression de la maladie les fibres en cours de régénération deviennent de moins en moins fréquentes et celles en cours de nécrose de plus en plus fréquentes, jusqu'au moment où la régénération ne compensera plus la nécrose, et les fibres nécrosées seront remplacées par du tissu adipeux et fibrotique, ce qui entraînera une diminution du nombre de fibres musculaires.

Vers l'âge de 10-11 ans, la quasi-totalité du tissu musculaire aura été remplacé par un tissu fibro-adipeux. Les muscles extra-oculaires sont les seuls non touchés par ce processus (Gardner-Medwin, 1980; Emery, 1993).

4) Méthodes d'évaluation des patients

Le but des différentes méthodes, qui vont être évoquées par la suite, est d'évaluer objectivement l'évolution du patient DMD, et par la même occasion de mettre en évidence le bénéfice ou non de la mise en place d'un traitement (Mercuri *et al.*, 2008).

Il existe de nombreuses méthodes pour évaluer les patients DMD, les plus simples à utiliser sont les grilles qui permettent d'obtenir un « score clinique », basées sur l'évaluation de plusieurs items.

a) *Scores cliniques*

i) *La Vignos Lower Extremity Scale et la Brooke Upper Extremity Functional Rating Scale*

Ces deux grilles de score, présentent en annexe 1 et 2, sont à utiliser ensemble pour permettre une évaluation complète du patient.

La *Vignos Lower Extremity Scale* permet d'évaluer les capacités motrices des membres inférieurs chez les patients DMD et de noter la progression de la maladie. Elle est composée de 10 items, le score le plus bas étant attribué aux patients les moins atteints (qui arrivent à marcher et monter des escaliers sans assistance) et le plus haut aux patients les plus atteints (ceux qui ne peuvent plus quitter leur lit) (Vignos PJ *et al.*, 1963).

La *Brooke Upper Extremity Functional Rating Scale* permet d'évaluer les capacités motrices des membres supérieurs chez les patients DMD. Elle est composée de 6 items, le score le plus bas étant attribué aux patients les moins atteints (qui arrivent à lever leur bras à la verticale et à toucher leur tête, en partant avec le bras le long du corps) et le plus haut aux patients les plus atteints (qui n'ont aucune fonction usuelle de la main) (Brooke *et al.*, 1981).

ii) *La North Star Ambulatory Assessment*

La *North Star Ambulatory Assessment* (NSAA) est une modification de la *Hammersmith Scale for Assessment of Motor Ability*, elle permet d'évaluer les patients DMD ambulatoires et ceux qui viennent juste de perdre l'ambulation, mais est très peu sensible pour les patients DMD non ambulatoires et faibles. Elle présente l'avantage d'être rapide à réaliser (environ 20 minutes) (Mercuri *et al.*, 2008). Elle est composée de 17 items, pour chaque item le patient reçoit une note : 2 lorsqu'il réalise l'item de façon normale, 1 lorsqu'il le réalise sans assistance même s'il le réalise d'une manière particulière, ou 0 lorsqu'il ne réussit pas à réaliser l'item de manière indépendante (Scott *et al.*, 2012).

iii) *La Mesure de Fonction Motrice*

La Mesure de Fonction Motrice (MFM) permet d'évaluer tous les patients DMD qu'ils soient ambulatoires ou non, et même les patients DMD âgés et faibles. Cependant elle ne permet pas de

mettre en évidence de façon précise les améliorations ou dégradations chez les patients et est de ce fait peu utilisée pour les essais cliniques sur les patients DMD à court terme, mais plutôt lors d'essais cliniques à long terme, lorsque les patients vont perdre l'ambulation (Mercuri *et al.*, 2008). Elle est composée de 32 items, certains sont statiques, d'autres dynamiques, à tester en position assise, couchée ou debout. Pour chaque item une note est attribuée : 0 lorsque le patient ne peut initier la tâche ou que la position de départ ne peut être tenue, 1 lorsqu'il réussit à ébaucher l'exercice, 2 lorsqu'il réalise incomplètement le mouvement demandé ou complètement mais de façon imparfaite (compensations, durée de maintien de la position insuffisante, lenteur, mauvais contrôle du mouvement...), ou 3 lorsqu'il réalise complètement et « normalement » l'exercice (le mouvement étant contrôlé, maîtrisé, dirigé, réalisé à vitesse constante). Si un item n'est pas réalisé (le patient refuse, ou la réalisation de l'item comporte un danger pour le patient) la note sera de 0. Il faut environ 45 minutes pour réaliser ce score et il nécessite d'avoir à disposition du matériel « spécifique » (Bérard *et al.*, 2009).

iv) La *Hammersmith SMA Functional Motor Scale*

La *Hammersmith SMA Functional Motor Scale* (HSFM) a d'abord été créée pour les patients atteints d'amyotrophie spinale dont l'ambulation était limitée, et peut s'utiliser dans le même contexte chez les patients DMD.

Elle est composée de 20 items et à chaque item est attribué le score de 0 ou 1, il faut ensuite faire la somme de tous les items. Un patient peu atteint aura un score élevé alors qu'un patient très atteint aura un score bas (Main *et al.*, 2003; Mercuri *et al.*, 2008).

v) La *Egan Klassification scale*

La *Egan Klassification scale* (EK) permet d'évaluer les patients DMD non ambulatoires. Elle est rapide à réaliser et est intéressante pour évaluer la fonction motrice des patients, elle manque cependant de sensibilité (Mercuri *et al.*, 2008).

vi) La *Gross Motor Function Measure*

La *Gross Motor Function Measure* (GMFM) a d'abord été créée pour évaluer les patients atteints de paralysie cérébrale et permet d'évaluer les patients qu'ils soient ambulatoires ou non. Elle peut être étendue aux patients DMD, et a même été validée pour les patients DMD non ambulatoires (Steffensen *et al.*, 2001). Elle est très sensible mais longue à réaliser (45 à 60 minutes) et peut être fatigante pour le patient. Elle est composée de 88 items, regroupés en 5 classes, chaque item est noté de 0 à 3 : 0 lorsque le patient ne réalise pas du tout l'item, 1 lorsqu'il commence sa réalisation, 2 lorsqu'il le réalise partiellement, ou 3 lorsqu'il le réalise complètement (« *Gross Motor Function Measure (GMFM) score sheet (GMFM-88 and GMFM 66 scoring)* », s. d.; Mercuri *et al.*, 2008; Russel *et al.*, 2003) .

Pour plus de détails, les grilles de score de la *Vignos Lower Extremity Scale*, la *Brooke Upper Extremity Functional Rating Scale* la NSAA, la MFM, la HSFM et la GMFM sont présentes respectivement en annexe 1 à 6.

b) Tests de performance motrice chronométrés

D'autres méthodes d'évaluation existent : chez les patients ambulatoires, on peut mesurer le temps mis pour se mettre debout le patient étant allongé sur le sol en position de départ, celui pour monter 4 marches d'escalier, celui mis pour parcourir 10 mètres (en courant ou en marchant selon les capacités du patient), celui pour se mettre debout en étant en position assise au départ, celui mis pour enfiler un tee-shirt, celui mis pour découper un carré de 9 cm² à l'aide de ciseaux sécurisés, et le temps mis pour parcourir 10 mètres en fauteuil roulant (les trois derniers items sont valables pour les patients non ambulatoires). Le patient ne doit normalement pas dépasser 120 secondes pour réaliser chaque item (Brooke *et al.*, 1981; Fowler *et al.*, 1995; McDonald *et al.*, 2013).

On peut également réaliser le « 6 minutes de marche » qui va permettre de mesurer différents paramètres :

- la distance parcourue par le patient lorsqu'il marche, le plus vite possible mais sans courir, durant 6 minutes,
- sa vitesse de minutes en minutes (pour cela, toutes les minutes, des marqueurs sont placés où se tenait le patient sur son trajet),
- le nombre de chute et la durée mise avant de repartir.

Et en l'associant avec d'autres tests :

- la longueur de sa foulée et sa cadence à l'aide d'un accéléromètre ou d'un podomètre, par exemple le StepWatch® de Orthocare Innovations,
- la fréquence cardiaque et la pression artérielle sont également mesurées avant et après le test (McDonald *et al.*, 2010).

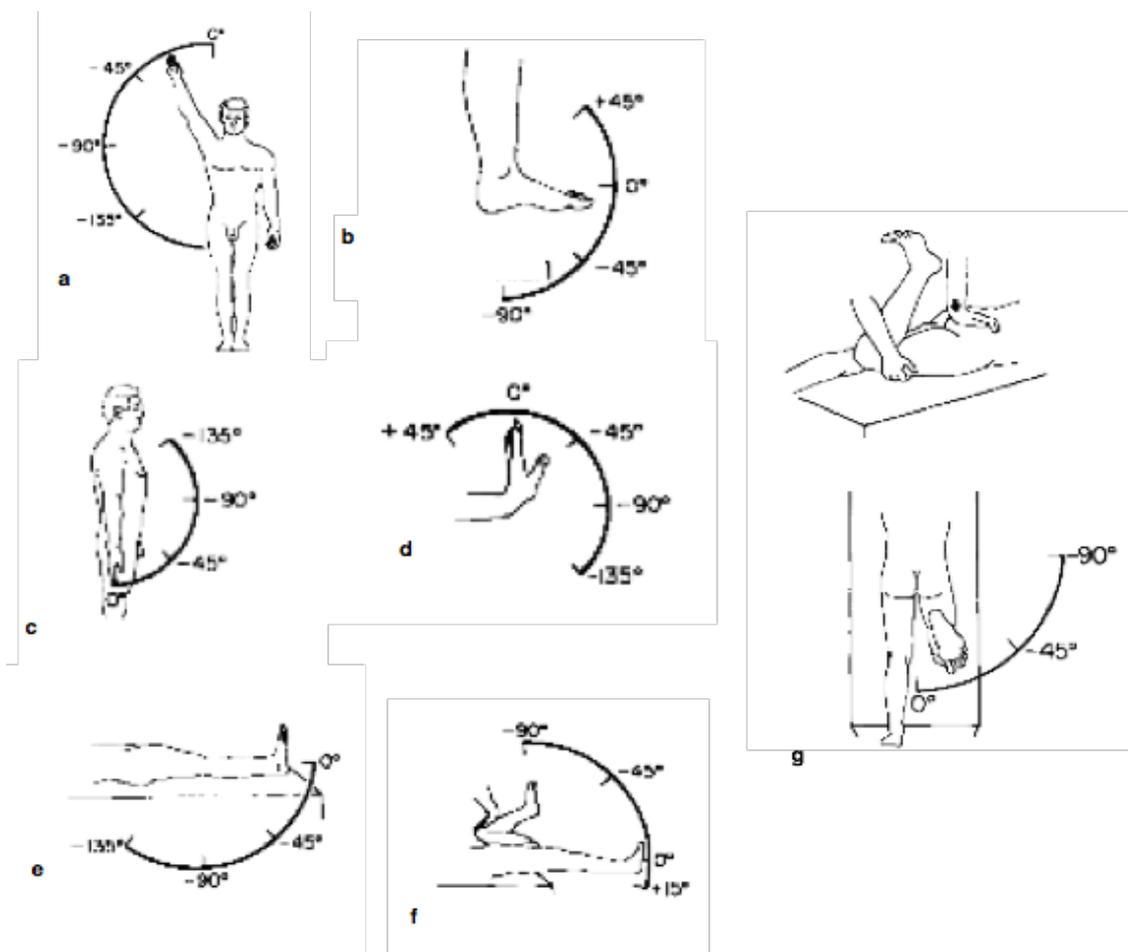
D'autres méthodes plus fines d'analyse de marche ont été rapportées chez le patient DMD mais ne sont pas encore démocratisées à l'échelle des principaux critères d'évaluation au cours des essais cliniques (D'Angelo *et al.*, 2009; Sutherland *et al.*, 1981).

Chez les patients ambulatoires ou non ambulatoires on peut évaluer les membres supérieurs, par exemple grâce au « 9-Hole Peg Test » (9-HPT), ce test va permettre d'évaluer la dextérité des patients DMD. On mesure le temps mis d'abord par la main dominante, puis par la main non dominante, pour placer 9 chevilles (prises dans un récipient placé du côté de la main qui réalise l'exercice) dans un panneau perforé et pour les retirer et les replacer dans le récipient (Grice *et al.*, 2003; Poole *et al.*, 2005; Svensson et Häger-Ross, 2006).

c) Évaluation des forces musculaires

On peut également évaluer l'importance des contractures des différents membres grâce au « Range of motion testing ». Lors de ce test, comme on peut le voir dans la figure 6, on va mesurer l'angle maximal obtenu, à l'aide d'un goniomètre, lors de l'abduction de l'épaule, de la dorsiflexion de la cheville, de l'extension du coude, du poignet, du genou, de la hanche, ainsi que l'angle maximal obtenu lorsqu'on sollicite la bandelette de Maissiat (Brooke *et al.*, 1981; Pandya *et al.*, 1985; McDonald *et al.*, 2013).

Figure 6 : Illustration des positions réalisées pour mesurer les angles du « Range and motion testing »



(a) abduction de l'épaule, (b) dorsiflexion de la cheville, (c) extension du coude, (d) extension du poignet, (e) extension du genou, (f) extension de la hanche, (g) sollicitation de la bandelette de Maissiat (Brooke et al., 1981).

La force de différents groupes musculaires est également évaluable, soit de façon manuelle, soit de façon quantitative :

- **manuellement**, la force peut être mesurée pour les groupes musculaires qui sont mobilisés lors des mouvements des articulations. Par exemple pour l'extension et la flexion du coude, on ne cherche pas à séparer l'action du biceps de celle du muscle brachio-radial, mais on considère le groupe des muscles extenseurs ou fléchisseurs du coude. Dans le protocole décrit par M. H. Brooke *et al.* en 1981, les mouvements sont réalisés dans des positions particulières (assis, allongé sur le côté ...), le tableau des différents mouvements, impliquant des groupes musculaires précis au nombre de 18, est présent en annexe 7 (Brooke *et al.*, 1981). D'autres protocoles vont utiliser les mêmes mouvements mais ne vont pas préciser les positions dans lesquelles ceux-ci doivent être réalisés (Florence *et al.*, 1992). D'autres encore vont évaluer plus de groupes musculaires au nombre de 34 (Florence *et al.*, 1984).

Là encore une grille de score permettra d'obtenir la mesure de force : 5 la force est normale, 5 – une faiblesse est présente mais elle est à peine détectable, 4 le muscle est faible mais réussit à mobiliser

l'articulation en présence de la gravité et d'une certaine résistance, 4S même signification que 4 mais le muscle est plus fort que le muscle de référence, 4W même signification que 4 mais le muscle est plus faible que le muscle de référence, 3 + le muscle est capable d'exercer une certaine résistance mais lâche brutalement (cette note est utilisée pour les muscles capables de mobiliser l'articulation en présence de la gravité et d'une discrète résistance, mais elle ne peut pas être utilisée pour les muscles capables de résistance soutenue tout au long des gammes de mouvements), 3 le muscle n'est pas capable de mobiliser l'articulation en présence d'une résistance mais peut le faire contre la gravité (à l'exception de l'extension du genou, où le patient sera classé 3 s'il peut maintenir l'extension 10 secondes), 3 – le muscle réussit à mobiliser l'articulation contre la gravité mais n'est pas capable de réaliser entièrement le mouvement, 2 le muscle ne mobilise l'articulation que lorsque la gravité est éliminée, 1 un tremblement est vu ou senti sur le muscle essayant de mobiliser l'articulation, 0 aucun mouvement.

À chaque test, il faut choisir un muscle de référence, qui devra obtenir la note de 4, et qui sera différent pour les bras et pour les jambes. Si par exemple pour les bras, les fléchisseurs du coude et les abducteurs de l'épaule obtiennent tous les deux la note de 4, les plus forts des deux sont choisis comme muscles de référence. Et si ces deux groupes de muscles sont trop faibles il faudra choisir soit les fléchisseurs ou les extenseurs du poignet. Pour les jambes le choix se fera entre les extenseurs du genou et les fléchisseurs de la hanche, si ces deux groupes musculaires sont trop faibles on se reportera sur les fléchisseurs du genou, ou encore les muscles qui permettent la dorsiflexion de la cheville (Brooke *et al.*, 1981; Florence *et al.*, 1992).

- on peut également mesurer **quantitativement** la force pour des groupes musculaires. Cela peut se réaliser à l'aide d'un dynamomètre, par exemple on peut utiliser un dynamomètre portable pour mesurer la force de préhension, ou d'autres instruments plus perfectionnés comme le Cooperative International Neuromuscular Research Group (CINR) Quantitative Measurement System (CQMS), qui permet de réaliser différentes mesures dont les Quantitative Muscular Testing (QMT). Il peut mesurer la force musculaire en pounds suite à la réalisation de multiples contractions isométriques volontaires. Avec cet instrument il est possible de mesurer la force d'abduction et d'adduction des hanches, de flexion et d'extension des coudes, des genoux, ainsi que la force de préhension et de prise en pince (force développée lorsque l'on pince un objet) (CINRG, s. d.; Escolar *et al.*, 2001; Mayhew *et al.*, 2007).

d) *Évaluation de la fonction respiratoire*

Une autre méthode pour évaluer les patients DMD consiste à étudier leur fonction respiratoire. Pour cela on peut mesurer différents paramètres par spirométrie, qui permet de contrôler la fonction pulmonaire et ventilatoire :

- la Capacité Vitale Forcée (CVF), qui est le volume d'air expiré avec force suite à une inspiration complète, pour cela le patient inspire à fond et souffle le plus rapidement possible, avec le nez pincé, tout l'air de ses poumons dans le spiromètre ;
- le Volume Expiratoire Maximal par Seconde (VEMS) qui correspond à la quantité d'air expulsée, toujours avec le nez pincé, durant la première seconde d'une expiration rapide et forcée (après une inspiration maximale), cette mesure se réalise également à l'aide d'un spiromètre ;
- le Débit Expiratoire de Pointe (DEP) qui est le débit maximal d'air expiré lorsque l'air est expulsé des poumons, pour cela il suffit après avoir pris une inspiration maximale de souffler dans un spiromètre ;
- le débit expiratoire de pointe à la toux est mesuré de la même manière que le DEP, mais au lieu de souffler dans l'embout il faut tousser ;
- la Pression Inspiratoire Maximale (PIM) le patient souffle au maximum pour vider l'air de ses poumons, puis avec le nez pincé il va inspirer le plus fort possible à travers un embout relié à un

manomètre ;

- la Pression Expiratoire Maximale (PEM) : le patient va inspirer à fond puis souffler le plus fort possible dans l'embout relié au manomètre (McDonald *et al.*, 2013; Phillips *et al.*, 2001; Schanen-Bergot, 2009).

e) Évaluation de la qualité de vie

Pour évaluer de la qualité de vie des patients DMD, de nombreux questionnaires existent, comme le « Pediatric Quality of Life Questionnaire » (PedsQL) qui comprend 15 items reliés à l'influence de l'état de santé sur la qualité de vie et 8 items liés plus spécifiquement au type de maladie, ou encore le « World Health Organization Quality Of Life Assessment » (WHOQOL) qui est composé de 100 questions, pour chacune d'elles le patient attribuant une note de 1 à 5 (1 répondant à la question posée par « pas du tout » et 5 par « énormément ») (Group, 1998; McDonald *et al.*, 2013; Organization et others, 1995; Varni *et al.*, 1999).

Toujours dans le but d'obtenir une idée de la qualité de vie des patients DMD, de nouveaux outils sont à l'étude, comme l'accélérométrie qui sera abordée dans la partie III de ce travail.

4) Gestion médicale et avancées de la recherche

a) Utilisation des glucocorticoïdes

À ce jour, il n'existe aucun traitement pour soigner la DMD, seul l'usage des corticoïdes permet de ralentir la progression de la maladie et de prolonger l'ambulation. Les glucocorticoïdes, en luttant contre la perte de la force et de la fonction musculaire, permettent par la même occasion de diminuer le risque de scoliose et améliorent la fonction respiratoire.

La prednisone/prednisolone comme le Deflazacort ND peuvent être utilisées pour un traitement journalier aux doses respectives de 0,75 mg/kg et 0,9 mg/kg ; il est conseillé de commencer les glucocorticoïdes lorsque le patient est encore ambulatoire mais a atteint son plateau (phase qui suit une phase de progression continue, et qui précède une phase de perte de capacité), souvent vers l'âge de 4 à 8 ans. Il sera toujours possible de commencer les glucocorticoïdes une fois la phase de déclin avancée ou même lorsque l'ambulation ne sera plus réellement présente, mais les bénéfices du traitement pourront être plus limités (Bushby *et al.*, 2010).

Lorsqu'un patient qui recevait des glucocorticoïdes perd l'ambulation, il est conseillé de continuer la prise de glucocorticoïdes, elle permettra alors de préserver le plus longtemps possible la force musculaire des membres supérieurs, de diminuer la progression de la scoliose, ainsi que de retarder le déclin des fonctions cardiaque et respiratoire.

De nombreux effets secondaires (obésité, hirsutisme, acnée, retard de croissance, puberté retardée, changements de comportement soudains, cataracte, fracture ...) peuvent bien sûr survenir suite à la prise de glucocorticoïdes au long court (Bushby *et al.*, 2010; Eagle *et al.*, 2002).

b) L'apport de la physiothérapie

La physiothérapie avec la réalisation d'étirements journaliers peut ralentir l'apparition des contractures, mais n'est surtout pas à réaliser si celles-ci sont déjà présentes. Lorsqu'un patient arrive à la fin de sa période ambulatoire, des orthoses genou-cheville-pied (comme celle présentée en figure 7) peuvent être utilisées pour prolonger celle-ci de 18 mois à 2 ans, parfois il peut être nécessaire de réaliser une ténotomie du tendon d'Achille pour rendre cela possible. De même une opération sera nécessaire lorsque la scoliose deviendra trop importante, car plus la scoliose s'aggravera plus la capacité pulmonaire diminuera. L'opération, qui consiste à réaliser une fusion des vertèbres cervicales, est conseillée lorsque l'angle de Cobb est de 20 à 40° et que la CVF (Capacité Vitale Forcée) est d'environ 30 % (Emery, 1993; Manzur *et al.*, 2008).

Figure 7 : Exemple d'une orthose genou-cheville-pied



knee-ankle-foot orthoses (KAFOs) (Apis Design et Cascade Orthotics, 2008).

c) Soutien de la fonction respiratoire

Une prise en charge de la fonction respiratoire doit aussi être réalisée. Elle permettra d'éviter la survenue d'hypoxie nocturne, pour cela le patient doit être placé sous ventilation assistée durant la nuit. Il sera relié à un ventilateur portable le plus souvent par un tube nasal (le mieux supporté). Mais lorsque la fonction respiratoire continue de se dégrader, cette ventilation assistée peut être mise en place plus longtemps au cours de la journée du patient, parfois il est même nécessaire de réaliser une trachéotomie pour augmenter l'efficacité de celle-ci (Emery, 1993; Eagle *et al.*, 2002).

d) La recherche : thérapies innovantes

Même si aucun traitement curatif n'existe pour le moment de nombreuses recherches thérapeutiques sont en cours. Ces recherches sont orientées dans deux directions, la première a pour but de rétablir une expression de dystrophine dans les fibres musculaires, alors que la seconde tente d'intervenir sur les mécanismes pathologiques impliqués dans la DMD.

i) Restauration d'une dystrophine complète

Une des premières possibilités explorées était une greffe de cellules souches à potentiel myogénique (mésoangioblastes) issues d'un donneur sain, associée à un traitement immunosuppresseur. Cette greffe semble avoir des effets bénéfiques chez le chien (Sampaolesi *et al.*, 2006), ce qui a motivé l'initiation d'un essai clinique chez des patients DMD. Auparavant, les essais cliniques menés se concentraient principalement sur des greffes de myoblastes. Les résultats obtenus ont montré que l'effet bénéfique provenait majoritairement du traitement immunosuppresseur, associé à la greffe de myoblastes. Même si les myoblastes restent présents et produisent de la dystrophine jusqu'à 6 mois après la greffe, ce n'est pas en quantité suffisante pour permettre une amélioration (Miller *et al.*, 1997).

On cherche aussi à faire s'exprimer de nouveau la dystrophine grâce à l'utilisation de plasmides codant pour le gène de la dystrophine complète. Il a d'abord été essayé d'introduire ce plasmide par électrotransfert chez le chien et la souris, ce qui a permis d'obtenir l'expression de dystrophine dans les muscles traités, mais cela n'a eu qu'un effet minime lors de l'injection intraveineuse sous pression du plasmide chez le patient DMD. Aucune réponse immunitaire n'a été notée contre la dystrophine lors de ces expériences (Pichavant *et al.*, 2010a; Romero *et al.*, 2004). L'une des problématiques rencontrées dans la thérapie génique pour la DMD est liée à la taille de l'ADNc de la dystrophine (14kb) trop importante pour permettre son incorporation au complet dans le génome d'un vecteur viral (Barthélémy et Thibaud, 2012).

ii) Restauration d'une quasi-dystrophine

Par mutagenèse dirigée chez la souris, il a été montré que seules certaines portions de la dystrophine sont indispensables à sa fonction (Chamberlain *et al.*, 1997), il a donc été possible de mettre en place des vecteurs contenant l'ADNc d'une dystrophine tronquée mais fonctionnelle. Par exemple des vecteurs AAV (Adéno-Associated-Virus) qui contiennent des mini-dystrophines et qui, injectés par voie intraveineuse chez le chien, permettent l'expression de cette dystrophine tronquée dans les muscles. Cependant, il a été mis en évidence par certains auteurs que ce vecteur pouvait entraîner la mise en place d'une réponse immunitaire (Kornegay *et al.*, 2010), cette réaction étant dirigée contre les protéines virales de la capsid et les produits du transgène, la mini-dystrophine. Il a été montré qu'elle pouvait être diminuée en purifiant les protéines de la capsid (Wang *et al.*, 2014). On a pu de même insérer des micro-dystrophines dans des vecteurs lentiviraux, ceci permettant une correction *ex vivo* des cellules qui pourront ensuite être réimplantées. Cette approche *ex vivo* (modification génétique des cellules *in vitro*), ainsi que l'électrotransfert (injection d'un plasmide nu) permettraient d'éviter la réaction immunitaire dirigée contre la capsid (Pichavant *et al.*, 2010b).

Une autre manière de contourner le problème de la taille de l'ADNc de la dystrophine,

également basée sur le fait que toutes ses portions ne sont pas nécessaires à sa fonctionnalité (Chamberlain *et al.*, 1997), et soutenue par le phénotype très modéré présenté par certains patients DMB, est le saut d'exons. Cette technique permettant de restaurer le cadre de lecture et donc d'obtenir une dystrophine tronquée mais fonctionnelle, a été envisagée suite à l'observation dans quelques cellules de patients DMD de la présence de dystrophines tronquées mais fonctionnelles, résultant d'un saut d'exon survenu naturellement (Goyenvalle *et al.*, 2004). Cet événement survenant trop peu fréquemment chez les patients, le but est d'induire et de diriger ce phénomène pour qu'il soit suffisamment fréquent pour permettre une restauration de la fonction musculaire. Pour cela il faut avoir recours à l'utilisation de séquences anti-sens, très spécifiques, permettant l'épissage dirigé des exons nécessaires au rétablissement d'un cadre de lecture correct. Elles pourront être incluses dans le génome d'un AAV, ce qui permet une injection par voie intraveineuse, ou dans celui d'un lentivirus pour réaliser une modification *ex vivo* de cellules souches qui seront ensuite ré-injectées au patient par voie intra-musculaire ou intra-artérielle. Cette séquence anti-sens va alors se fixer dans les cellules musculaires aux sites d'épissages et les masquer, entraînant la suppression des exons nécessaires au rétablissement du cadre de lecture. Par exemple dans une étude chez le chien le saut des exons 6 et 8 permet de restaurer le cadre de lecture et d'obtenir une quasi-dystrophine remplaçant la dystrophine manquante (Goyenvalle *et al.*, 2004; Benchaouir *et al.*, 2007; Vulin *et al.*, 2012b). Chez l'homme pour les patients DMD atteints de délétions concernant les exons 45–50, 47–50, 48–50, 49–50, 50; 52, ou 52–63, il peut être intéressant de sauter l'exon 51 pour restaurer le cadre de lecture. Une étude réalisée sur l'injection intra-musculaire (extenseur court des doigts) d'une séquence antisens visant l'exon 51 a montré qu'à forte dose la séquence anti-sens permettait une expression de quasi-dystrophine (Kinali *et al.*, 2009). Cette technique semble une possibilité thérapeutique prometteuse, mais des études sur le long terme doivent encore être réalisées pour déterminer si la perte d'expression de la quasi-dystrophine sur le long terme est liée à la progression de la maladie elle-même, à un processus immunitaire ou à une instabilité de la quasi-dystrophine (Vulin *et al.*, 2012b). Cette stratégie de saut d'exon peut également s'appuyer sur des oligonucléotides non vectorisés mais pharmacologiquement optimisés pour permettre une biodistribution correcte après injection systémique et un adressage des séquences aux noyaux. Deux versions différentes de ces oligonucléotides antisens pharmacologiquement optimisés ont déjà fait l'objet de plusieurs essais cliniques dans le cadre du saut de l'exon 51, l'eteplirsén et le drisapersén (Mendell *et al.*, 2013; Voit *et al.*, 2014). Les complications qui pourraient survenir suite à des injections répétées de ces séquences anti-sens restent encore à bien caractériser, même si pour le moment ce type de stratégie ne semble pas présenter d'effet secondaire et permet une amélioration au long court (Echigoya *et al.*, 2015).

Dans le cadre de DMD provoquée par une mutation non-sens, des traitements pharmacologiques sont à l'étude. Citons l'Ataluren anciennement appelé PTC-124 : il agit sur la machine de traduction ribosomale, permet la translecture des codons stops prématurés et donc l'expression d'une dystrophine complète et fonctionnelle. La recherche sur cette molécule est encore en cours, mais elle permet une production de la dystrophine chez certains patients DMD, dont la mutation causale est une mutation non-sens, sans qu'une amélioration clinique ait été notée pour le moment (essais sur du court terme, et les parents rapportaient tout de même une diminution de la fatigabilité à l'effort) (Hamed, 2006; Finkel *et al.*, 2013; Haas *et al.*, 2015). D'autres molécules, découvertes plus récemment et possédant la même fonction, sont également à l'étude (Kayali *et al.*, 2012; Takeshima, 2014). Des antibiotiques, de la famille des aminoglycosides, tels que la gentamicine sont aussi à l'origine d'une translecture des codons stops prématurés. Cependant la néphro- et l'oto-toxicité de la gentamicine impliquent une surveillance rapprochée lors des essais expérimentaux. Une possibilité pour diminuer cette toxicité est de changer la manière de délivrer la gentamicine, par exemple en l'incluant dans un liposome hybride (Malik *et al.*, 2010; Yukihiro *et al.*, 2011).

iii) Actions contre les mécanismes pathologique de la DMD

Des recherches thérapeutiques consistant à essayer de contrer les mécanismes pathogéniques résultant de l'absence de dystrophine, sans tenter de la ré-exprimer de quelques manières que ce soit, ont également été mises en œuvre.

Par exemple il est possible de ralentir la progression de la fibrose musculaire, voire même de diminuer la fibrose pré-existante grâce à l'halofuginone. L'halofuginone diminue la synthèse de collagène dans les muscles qui présentent un taux important de fibrose, mais ne semble pas affecter la synthèse de collagène d'autres tissus. Cependant son effet est réversible, et le traitement doit être réalisé au long cours (Turgeman *et al.*, 2008).

Il a également été tenté de supplémenter en glutamine (acide aminé non essentiel majoritairement produit et stocké par le tissu musculaire, dont la synthèse est diminuée lors de DMD) des enfants atteints de DMD, mais sur 4 mois cette supplémentation n'a montré aucun effet (Mok *et al.*, 2009).

Les surcharges calciques entraînant l'activation de protéases et donc la destruction de la cellule musculaire ont aussi été la cible de recherches. L'administration de certains antagonistes calciques a été testée chez le patient DMD, mais n'a pas été concluante (Phillips et Quinlivan, 1996). En revanche, plus récemment, chez les souris *mdx* (X-linked Muscular Dystrophy mouse) la nifedipine permet de diminuer la concentration de calcium ionisé des fibres musculaires, ainsi que l'expression des gènes pro-oxidatifs/apoptotiques, ce qui est certainement responsable de l'amélioration la fonction musculaire observée (Altamirano *et al.*, 2013). Sur les souris, il a également été tenté de stabiliser le récepteur à la ryanodine RyR1 à l'aide de la molécule S107, ce qui permet de diminuer les fuites de calcium ionisé liées à ce canal. L'instabilité de ce récepteur est liée à une hypernitrosylation qui entraîne la perte de la calstabile 1 stabilisant le canal. La molécule S107 permet de garder la calstabile 1 liée au canal. Dès la première semaine de traitement, cette molécule montre des effets bénéfiques sur les capacités musculaires, et dès la quatrième semaine sur l'histologie (Bellinger *et al.*, 2009).

La myostatine, hormone régulant négativement la croissance musculaire, a de ce fait été la cible de recherches ayant pour but d'inhiber son expression. En effet, il a été mis en évidence que, lorsqu'une mutation survenait dans le gène de la myostatine, provoquant une perte de fonction de celle-ci, les animaux présentaient une hypertrophie musculaire marquée (Mosher *et al.*, 2007). Différents moyens ont été testés pour réguler négativement l'action de cette myostatine comme, par exemple via l'utilisation de récepteurs solubles à la myostatine. Chez les souris *mdx*, ceci a permis une augmentation de la masse et de la force musculaire (Morine *et al.*, 2010; Kainulainen *et al.*, 2015). L'utilisation d'anticorps anti-myostatine, a également permis une augmentation de la masse et de la force musculaire chez les souris *mdx* (Bogdanovich *et al.*, 2002). La dernière molécule testée dans cette optique est l'érythropoïétine (EPO) chez la souris *mdx*. Elle entraîne une diminution marquée de l'expression de myostatine, mais n'augmente pas la force musculaire (Feder *et al.*, 2014).

Chez des chiens dystrophiques comme chez les patients DMD, il a été montré que l'utrophine était discrètement sur-exprimée dans les fibres musculaires, mais ceci de manière insuffisante pour permettre une atténuation des signes cliniques (Lanfossi *et al.*, 1999). Il a donc été tenté de sur-exprimer l'utrophine, au moyen de thérapies pharmacologiques (activation de la voie calcineurine-NFAT, ou donneurs de NO), ou géniques. En effet l'utrophine, analogue de la dystrophine, qui une fois le développement terminé n'est plus exprimée que sous la membrane des fibres musculaires de la plaque motrice, l'était sous toute la surface de la membrane durant le développement (Kerhoas, 2003; Hirst *et al.*, 2005).

L'injection, dans un muscle de chien, de mini-utrophine contenue dans un vecteur viral (adénovirus) permet l'expression d'une mini-utrophine dans les fibres musculaires injectées, et une amélioration phénotypique des muscles injectés. Cependant pour empêcher la réponse immunitaire dirigée contre les protéines de caspide et la mini-utrophine il est nécessaire de mettre en place un traitement

immunosuppresseur (Cerletti *et al.*, 2003).

De nombreuses autres pistes thérapeutiques sont envisagées et émergeront dans le futur. L'une des voies en cours d'exploration est celle des facteurs modificateurs de la maladie, qui permettraient de moduler fortement l'expression clinique de la maladie. L'origine de cette piste thérapeutique provient d'observations cliniques, telles que celle d'un chien Golden Retriever Muscular Dystrophy (GRMD), qui présentait les signes histologiques typiques des chiens GRMD, ainsi qu'une absence de dystrophine sans augmentation d'utrophine, mais ses signes locomoteurs étaient très peu marqués. Par ailleurs parmi ses nombreux descendants, l'un d'eux présente les mêmes caractéristiques que lui (Zatz *et al.*, 2015). Il a été montré, chez ces chiens, qu le gène Jagged 1, impliqué dans la régulation de la voie Notch, était sur-exprimé. C'est cette sur-expression qui pourrait être à l'origine de l'atteinte motrice très peu marquée (Vieira *et al.*, 2015). Cette variabilité phénotypique des chiens GRMD a été observée par toutes les équipes dans le monde travaillant sur ce modèle, une nouvelle perspective pour la recherche pourrait être de trouver les mécanismes qui permettent de moduler à ce point l'expression de la maladie.

La DMD est malheureusement une maladie pour laquelle aucun traitement curatif n'a encore été élaboré, cependant la recherche dans ce domaine est très active et de nombreuses pistes thérapeutiques sont en cours d'exploration. Les essais ne pouvant être réalisés directement sur les patients DMD, cette recherche nécessite l'utilisation de modèles animaux de la maladie.

II Présentation des différents modèles animaux et intérêt du modèle GRMD

Les modèles animaux sont nécessaires à la recherche thérapeutique pour la DMD, notamment en amont des essais cliniques, pour des essais d'efficacité et de toxicité, lors de la découverte d'un nouvel axe thérapeutique. Trois espèces de mammifères ont spontanément développé la maladie, à partir desquelles des colonies ont été créées pour conserver leur mutation. D'autres modèles animaux de DMD tel que le porc, chez lequel on a provoqué la délétion de l'exon 52 de la dystrophine (Klymiuk *et al.*, 2013), le rat chez lequel on a provoqué une délétion au sein de l'exon 23 grâce aux TALENS (Transcription activator-like effector nucleases) (Larcher *et al.*, 2014), ou encore le singe chez qui la DMD a pu être reproduite grâce à l'utilisation de CRISPR/Cas9 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats) (Chen *et al.*, 2015), sont en cours de développement.

1) Les modèles animaux de DMD

a) *La souris*

La première espèce et la plus utilisée, est l'espèce murine. Il existe différentes mutations chez la souris à l'origine de la maladie, et donc différentes lignées de souris : *mdx*, *mdx2cv*, *mdx3cv*, *mdx4cv*, *mdx52* et *mdx/utr^{-/-}* (cette dernière dite « double KO » présente de plus une absence d'utrophine qui aggrave son phénotype) (Bulfield *et al.*, 1984). Parmi toutes ces lignées les plus utilisées sont les souris *mdx*, *mdx/utr^{-/-}* et les *mdx52* (Banks et Chamberlain, 2008; Nakamura et Takeda, 2011; Goyenvalle *et al.*, 2015).

Pour les souris *mdx* la maladie est apparue de façon spontanée dans la lignée C57BL/10, elle est liée à une mutation non-sens dans l'exon 23 du gène de la dystrophine (Sicinski *et al.*, 1989). Ces souris tout comme les patients DMD vont présenter une concentration sérique plus élevée en CK. À l'histologie, les biopsies musculaires réalisées à partir de l'âge de 3 semaines, montrent des lésions de muscle dystrophique (vague de nécrose à l'âge de 3 semaines, puis cycles de nécrose / régénération, à 8 semaines la majorité des fibres sont centronuclées). Cependant ces souris ne présentent que peu de fibrose musculaire et d'infiltration adipocytaire (à l'exception du diaphragme), contrairement aux patients DMD (Bulfield *et al.*, 1984). De même du point de vue clinique, ces souris ne sont que faiblement atteintes et présentent peu de signes cliniques : leur espérance de vie est réduite par rapport aux souris saines, elles vont présenter des difficultés à se déplacer pour se nourrir et boire, et à faire leur toilette mais cela de manière tardive (78 semaines) (Pastoret et Sebillé, 1993). Pour mieux connaître l'impact des essais de traitements sur ces souris, il est possible de quantifier leur force musculaire (Quinlan *et al.*, 1992; Sacco *et al.*, 1992). Il est également possible d'évaluer la fonction respiratoire à l'aide d'un pléthysmographe pour corps entier, ainsi que la fonction cardiaque par échocardiographie (une cardiomyopathie dilatée étant mise en évidence à l'âge de 42 jours) (Quinlan *et al.*, 2004; Ishizaki *et al.*, 2008).

Les souris *mdx52* ont elles été créées en provoquant la délétion de l'exon 52 grâce à une technique de recombinaison homologue. En dehors de la différence dans leur mutation, les souris *mdx* et *mdx52* présentent le même phénotype. Les souris *mdx52* ont cependant une particularité, l'isoforme rétinienne de la dystrophine (Dp260) est également absente, ceci provoquant des anomalies de leur électrorétinogramme (Araki *et al.*, 1997; Kameya *et al.*, 1997).

L'une des hypothèse mise en avant pour expliquer une atteinte locomotrice moindre des souris *mdx* par rapport aux patients DMD était que l'utrophine compensait l'absence de dystrophine. C'est dans

le but de vérifier cette hypothèse que les souris *mdx/utr^{-/-}* ont été créées. Ces souris sont plus petites que les souris non mutées, deviennent moins mobiles avec l'âge, présentent des contractures musculaires, et meurent vers l'âge de 20 semaines. Elles développent également une réponse inflammatoire au sein des muscles squelettiques, de nombreuses fibres musculaires sont remplacées par du tissu fibreux, et d'autres régions musculaires sont remplacées par du tissu adipeux. Ces souris développent également une cardiomyopathie grave (Collins et Morgan, 2003; Banks et Chamberlain, 2008).

Ces souris sont très utilisées dans les premières étapes de recherche thérapeutique, du fait de leur petite taille, de leur reproduction et de leur entretien facile. Elles sont de plus un bon modèle génétique de DMD qui présente des altérations fonctionnelles quantifiables. Cependant l'absence de signe clinique marqué (à l'exception des *mdx/utr^{-/-}*), leur petite taille (très différente de celle d'un patient DMD) et la différence sur certains points des lésions histologiques sont des limites à son utilisation. Les souris comme les *mdx/utr^{-/-}* ont été créées pour tenter d'obtenir des signes cliniques et histologiques plus proches de ceux des patients DMD, mais sont de ce fait moins proches génétiquement et moléculairement de la maladie originelle (Banks et Chamberlain, 2008).

b) Le chat

La deuxième espèce animale, qui est elle peu utilisée, est l'espèce féline. De la même manière que chez les souris la mutation est survenue de manière spontanée, c'est une délétion qui inclut les promoteurs musculaire et de Purkinje du gène de la dystrophine. Cette délétion ne touchant que ces deux promoteurs, une dystrophine est tout de même présente dans les cellules musculaires : l'isoforme neuronale de la dystrophine qui se localise sous la membrane des fibres musculaires (Winand *et al.*, 1994; Nakamura et Takeda, 2011; Willmann *et al.*, 2009).

Une seule lignée de chat dystrophique existe, elle est hébergée à l'ENVA à l'UETM (Unité d'Étude et de Thérapie des Myopathes), elle a été créée à partir d'individus identifiés comme dystrophiques venant de Suisse, mais les études ont été réalisées sur des individus qui avant la survenue des premiers symptômes de la maladie étaient des animaux de compagnie (Vos *et al.*, 1986; Carpenter *et al.*, 1989; Gaschen *et al.*, 1992; Gaschen et Burgunder, 2001).

Ces chats de compagnie présentaient tous des anomalies de la démarche : ils pouvaient avoir des difficultés à sauter, courir avec une démarche en « saut de lapin », avoir une démarche raide (associée à une raideur du cou), et n'étaient pas capable de se coucher mais se laissaient plutôt tomber sur le côté. À cela pouvaient s'ajouter d'autres symptômes comme des régurgitations (dus au mégaoesophage, lui même causé par l'hypertrophie diaphragmatique), une diminution globale d'activité par rapport aux chats sains, une macroglossie, ainsi qu'une hypertrophie musculaire généralisée (à l'exception des muscles de la tête), raison pour laquelle ces chats sont appelés HFMD pour Hypertrophic Feline Muscular Dystrophy. L'hypertrophie musculaire est illustrée en figure 8, avec la photographie d'un chat HFMD de 7 ans.

Ils présentent comme les patients DMD une concentration sérique de CK supérieur à la normale. Des cas d'insuffisance rénale ont été rapportés, mais seraient liés à la diminution de la prise de boisson causée par la macroglossie (Vos *et al.*, 1986; Carpenter *et al.*, 1989; Gaschen *et al.*, 1992). L'histologie montre la mise en place d'un processus de nécrose-régénération caractéristique du phénotype dystrophique, mais comme pour les souris *mdx* le processus de fibrose est peu présent (à l'exception du diaphragme). Les fibres musculaires présentent également une taille augmentée pour la plupart, ce qui fait de l'hypertrophie une hypertrophie vraie, ainsi que quelques dépôts calciques (Vos *et al.*, 1986; Carpenter *et al.*, 1989; Gaschen *et al.*, 1992; Gaschen et Burgunder, 2001).

La délétion touchant également le promoteur de Purkinje de la dystrophine, il en résulte que

celle-ci est totalement absente des cellules musculaires cardiaques. Ceci est en adéquation avec le fait que l'atteinte cardiaque chez les chats HFMD est précoce et marquée. Ces chats développent une cardiomyopathie hypertrophique (Winand *et al.*, 1994; Chetboul *et al.*, 2004a).

Chez ces chats, le stress ou un exercice physique peuvent encore majorer l'augmentation de la concentration sérique des CK. Mais le stress peut également entraîner une rhabdomyolyse aiguë qui tuera l'animal en quelques minutes (Gaschen *et al.*, 1998).

La manipulation des chats HFMD est donc délicate, de plus ils présentent une atteinte motrice modérée, et leur atteinte cardiaque est bien présente mais différente de celle des patients DMD (Chetboul *et al.*, 2006). Toutes ces raisons sont à l'origine de l'utilisation limitée du chat HFMD pour la recherche thérapeutique.

Figure 8 : Chat HFMD



Chat HFMD de 7 ans, on observe l'hypertrophie des muscles cervicaux et appendiculaires proximaux, ainsi que la macroglossie qui entraîne une protrusion de la langue hors de la gueule (Gaschen et al., 2004).

c) Le chien

La dernière espèce est l'espèce canine, où la maladie est apparue de façon spontanée dans de nombreuses races. Elle a d'abord été identifiée dans une lignée de Terriers Irlandais, par l'analyse des signes cliniques, du mode de transmission (identifié comme lié à l'X dans cette lignée), et des coupes histologiques de biopsies musculaires, qui évoquaient la DMD (Wentink *et al.*, 1972). Elle a par la suite été suspectée dans de nombreuses races telles que : le Samoyède, le Groenendael, et

l'Épagneul breton, sur la base du phénotype clinique, histologique, et du mode de transmission, sans mise en évidence du déficit en dystrophine (Valentine *et al.*, 1992). Ce déficit a pu être caractérisé par immunomarquage ou western blot, chez des individus ou au sein de familles, dans d'autres races telles que : le Schnauzer nain, le Spitz (Jones *et al.*, 2004), le Rat terrier (Wetterman *et al.*, 2000), le Braque de Weimar (Baltzer *et al.*, 2007), le Grand Basset Griffon Vendéen (Klarenbeek *et al.*, 2007), et le Labrador Retriever (Bergman *et al.*, 2002). Dans certaines races, on est même allé jusqu'à caractériser partiellement ou totalement la mutation responsable, c'est le cas du Pointer Allemand, qui présente une délétion totale du promoteur de la dystrophine (Schatzberg *et al.*, 1999), du Cavalier King Charles, pour qui une mutation non-sens dans l'exon 50 entraîne une délétion de cet exon dans l'ARNm et donc un décalage du cadre de lecture qui provoque l'apparition d'un codon stop prématuré au sein de l'exon 51 (Walmsley *et al.*, 2010). Du Rottweiler, qui présente une mutation non-sens au sein de l'exon 58 (Kornegay *et al.*, 2012). Du Corgi, pour qui une insertion au sein de l'intron 13, entraîne l'apparition d'un codon stop prématuré (Smith *et al.*, 2011). Du Spitz Japonais, pour qui une inversion de 5,4 Mb sur le chromosome X, intervient entre le gène de la dystrophine et le gène RPGR (*retinis pigmentosa GTPase regulator*). Cette inversion remplaçant à partir de l'intron 19 (entre F6 et R6.1) le gène de la dystrophine par une partie du gène RPGR entraîne l'expression d'une dystrophine seulement partielle de 70-80 kDa au sein de la cellule musculaire (Atencia-Fernandez *et al.*, 2015). Le tableau 1 résume les différentes races répertoriées ainsi que leurs mutations lorsque celles-ci sont connues.

Tableau 1 : Races de chiens dystrophiques et caractérisation / mutation causale

Races	Caractérisation
Terriers Irlandais, Samoyède, Groenendael, Épagneul breton	Phénotype clinique / histologique, mode de transmission
Schnauzer nain, Spitz, Rat terrier, Braque de Weimar, Grand Basset Griffon Vendéen, Labrador Retriever	immunomarquage / western blot
Pointer Allemand	Délétions totale promoteur dystrophine
Cavalier King Charles	Mutation non-sens au sein exon 50
Rottweiler	Mutation non-sens exon 58
Corgi	Insertion au sein intron 13
Spitz Japonais	Inversion 5,4 Mb sur chromosome X
Golden Retriever	Mutation non-sens intron 6
Beagle (provoqué)	Mutation non-sens intron 6

Le Golden Retriever a été une des races les plus décrites, et c'est à partir d'individus atteints qu'une colonie, utilisée dans plusieurs laboratoires à travers le monde, a été créée. Les chiens de cette colonie sont des chiens GRMD (Golden Retriever Muscular Dystrophy). L'évolution de leurs signes cliniques, les lésions histologiques, leur mutation, leur taille en font de bons modèles de la DMD, même si leur taille rend plus difficile et plus coûteux leur entretien en laboratoire. Les particularités des chiens GRMD seront développées dans le paragraphe suivant).

Une autre colonie régulièrement utilisée de chiens dystrophiques existe : les chiens CXMD₁ (Canine X-Linked Muscular Dystrophy japonais), qui sont des Beagles portant la même mutation

que les chiens GRMD. Elle leur a été transférée, par croisements dirigés à partir d'une femelle beagle inséminée artificiellement avec de la semence congelée d'un chien GRMD. Les Beagles étant plus petits que les Golden Retriever, ceci rend leur coût d'entretien plus faible et leur entretien plus facile (Shimatsu *et al.*, 2003).

2) Le modèle GRMD en détail

a) *Mutation causale*

Comme la DMD, la dystrophie musculaire du Golden Retriever est héréditaire, elle est transmise sur un mode récessif lié au chromosome X (Cooper *et al.*, 1988a). De ce fait seuls les mâles sont atteints, des femelles atteintes peuvent être produites à partir d'un croisement entre une femelle porteuse et un mâle malade, assuré par insémination artificielle.

La mutation des chiens GRMD est une mutation ponctuelle sur un site d'épissage de l'extrémité 3' de l'intron 6, une adénine y est remplacée par une guanine. Cette mutation de type non-sens entraîne l'épissage de l'exon 7 et son absence dans l'ARNm mature et donc un décalage du cadre de lecture qui produit un codon stop prématuré au sein de l'exon 8 (Sharp *et al.*, 1992). Cette mutation entraîne une absence de dystrophine de longueur normale dans les fibres musculaires des chiens GRMD (mâles et femelles homozygotes dystrophiques), et elle est exprimée en quantité réduite chez les femelles hétérozygotes (Cooper *et al.*, 1988b). Cependant, comme chez l'homme le chien GRMD présente des fibres révertantes : la dystrophine y est exprimée grâce à un saut des exons 3 à 9 ou 5 à 12, qui permettent de rétablir le cadre de lecture et de produire une protéine d'environ 390kDa (Schatzberg *et al.*, 1998).

L'absence de dystrophine aura les mêmes conséquences pathogéniques chez le chien GRMD que chez le patient DMD (Cooper *et al.*, 1988b; Valentine *et al.*, 1990b; Sharp *et al.*, 1992).

b) *Formes cliniques*

Chez les chiens GRMD à la naissance, contrairement à l'homme, il existe deux formes cliniques de la maladie : la forme progressive / classique et la forme néonatale fulminante.

i) La forme fulminante

Elle est provoquée par une nécrose aiguë des muscles les plus sollicités, en particulier, la langue pour la tétée, le diaphragme pour la respiration et les muscles des membres utilisés pour la reptation. Dès la naissance, les chiots montrent des signes de faiblesse, de déshydratation et d'hypothermie, et meurent au cours de leurs 10 premiers jours de vie. Les chiots touchés par cette forme présentent généralement les concentrations sériques les plus élevés de CK à la naissance. (Valentine et Cooper, 1991; Valentine *et al.*, 1988a; Nguyen, 2001; Cordazzo, 2007; Barthélémy et Thibaud, 2012).

ii) Forme classique

Dès la naissance les chiots atteints présentent une concentration sérique de CK 500 à 1000 fois plus élevée que la moyenne, alors que chez les chiens sains elle n'est que 10 à 20 fois plus élevée (du fait du traumatisme de la naissance). Deux jours après la naissance cette concentration redescend pour n'être supérieure plus que de 6 à 100 fois la normale, et continue à diminuer pendant les 2 deux premières semaines tout en restant anormal. De 3 à 6 semaines la concentration sérique de CK se remet à augmenter pour atteindre un pic 100 fois supérieur à la normale vers 6 à 8 semaines, alors que chez les chiens sains à partir de 2 semaines la concentration sérique de CK n'est que très discrètement supérieur à la norme. Les chiots GRMD présentent dès cette période un retard de croissance, sans autre signe clinique associé, alors que leurs poids et taille sont comparables aux chiens sains à la naissance (Valentine *et al.*, 1988a).

De 6 à 9 semaines la concentration sérique de CK atteint un palier entre 50 et 100 fois la valeur normale. Le signe clinique le plus marqué durant cette période est l'incapacité que présentent les chiens GRMD d'ouvrir complètement la gueule. Leur poids corporel est inférieur à celui des chiots sains d'une même portée, et ils développent une démarche anormale, leurs membres sont raides, leurs foulées courtes, et leurs deux membres postérieurs se déplacent simultanément donnant une démarche appelée en « saut de lapin ». Il semblerait également que les chiots GRMD soient discrètement moins actifs que les chiots sains (Valentine *et al.*, 1988a).

De 9 à 12 semaines les chiots GRMD deviennent de moins en moins actifs, et leur démarche de plus en plus raide. La démarche en « saut de lapin » est toujours présente, et même à l'arrêt, leur posture est anormale car ils ramènent leurs membres postérieurs sous eux, présentent une abduction des coudes, une adduction des jarrets, une hyper-extension des carpes, une hyper-flexion des tarsi et une abduction des griffes. La capacité d'ouverture de leur gueule est également beaucoup diminuée. L'amyotrophie généralisée est bien visible, particulièrement pour les muscles du tronc et les temporaux, alors que les muscles proximaux des membres (notamment des cuisses) semblent épargnés. À cette période on peut remarquer une atteinte moindre des femelles homozygotes par rapport aux mâles atteints (Valentine *et al.*, 1988a).

Sur la période de 12 semaines à 14 mois, on assiste à une aggravation des signes précédemment décrits jusqu'à 6 mois, qui vont se stabiliser par la suite, voire même discrètement régresser.

L'amyotrophie s'aggrave et atteint même les muscles des membres, elle est accompagnée de contractures, dues à la fibrose des muscles proximaux qui deviennent fermes à la palpation. Ces contractures empêchent l'extension complète des épaules et des coudes. Vers 6 mois les chiens GRMD vont présenter une cyphose moyenne à modérée qui s'aggrave en lordose moyenne vers 14 mois, à ceci peuvent s'associer une déformation dorsale du processus xyphoïde, une déformation sternale de type pectus excavatum ainsi que des déformations des cartilages costaux. Les GRMD restent cependant capables de marcher voire de courir sur de courtes distances, mais présentent des difficultés à grimper les escaliers ainsi qu'une fatigabilité à l'exercice. Exceptionnellement, certains peuvent perdre l'ambulation, ils sont alors incapables de mobiliser leur membres, de se relever.

Une macroglossie se développe, liée à une hypertrophie qui touche principalement la base de la langue. À cela s'associent des troubles de la déglutition pharyngée et œsophagienne (hyperplasie de la musculature œsophagienne), provoquant dysphagie, régurgitation, et ptialisme important. Les GRMD présentent de plus des difficultés de préhension et de mastication, liées à l'amyotrophie.

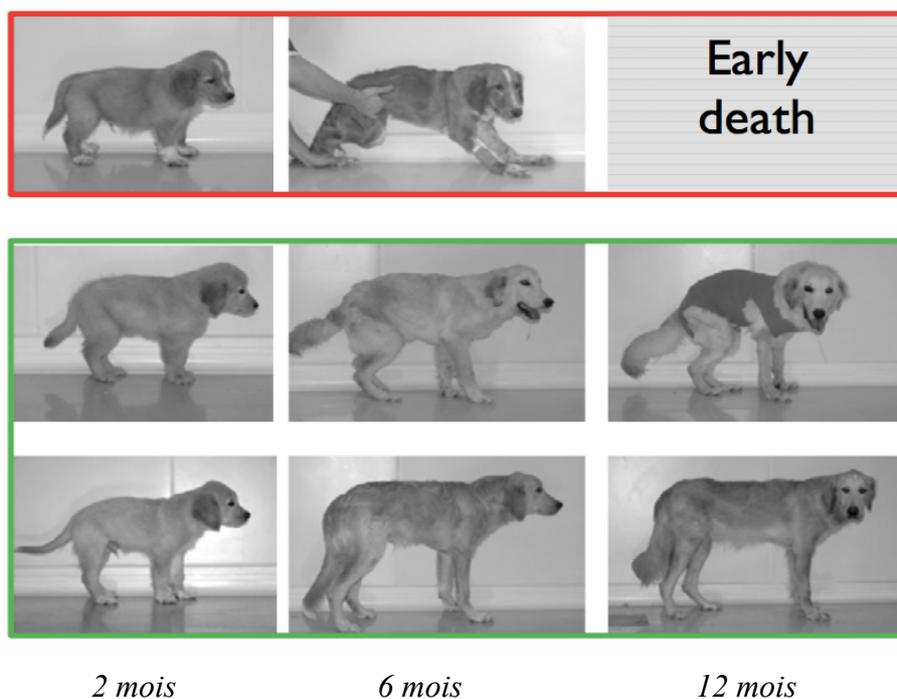
Ces chiens souffrent également d'insuffisance respiratoire, en effet la réalisation d'un exercice même modéré, provoque une augmentation du rythme respiratoire, accompagné d'une respiration abdominale et d'une dyspnée.

Leur aboiement est plus faible que les chiens sains. Et même si leur poids reste inférieur à celui des chiens sains, leur stature finale est semblable.

Les femelles homozygotes sont moins touchées que les mâles. Mais même au sein des mâles, il y a une forte variabilité dans la gravité de l'atteinte clinique des chiens GRMD, ils ne sont

pas tous capables de marcher la même distance sans s'arrêter ou se coucher, certains ont des difficultés à se lever d'autres non, la gravité des contractures est elle aussi variable ... Certains seront atteints d'une forme accélérée de la maladie, et perdront l'ambulation avant l'âge de 6 mois, ce qui conduira à leur euthanasie. D'autres seront atteints d'une forme modérée et conserveront l'ambulation au moins jusqu'à l'âge de 6 mois voire plus (Valentine *et al.*, 1988a; Cordazzo, 2007; Barthélémy *et al.*, 2014). La figure 9 illustre cette variabilité.

Figure 9 : Chiens GRMD présentant différents degrés d'atteinte de la maladie



*En rouge un chiot atteint d'une forme accélérée (perte de l'ambulation avant 6 mois et euthanasie), alors qu'en vert les chiots sont atteints d'une forme modérée. Même à l'intérieur de cette forme on peut observer que les chiots ne sont pas atteints de la même manière (Barthélémy *et al.*, 2014).*

De 3,5 à 6 ans, la concentration sérique de CK diminue pour passer de 15 à 5 fois la normale. Les symptômes précédemment évoqués restent stables ou peuvent s'aggraver progressivement. Les chiens développent en plus une cardiomyopathie dilatée (Moise *et al.*, 1991; Devaux *et al.*, 1993; Nguyen, 2001; Barthélémy et Thibaud, 2012), souvent vers l'âge de 6 ans cette cardiomyopathie décompense, et des signes d'insuffisance cardiaque (hypocontractilité ventriculaire, ascite, fatigabilité, dyspnée) sont observables. Le chien meurt alors souvent de sa cardiomyopathie ou est euthanasié (Cordazzo, 2007; Valentine *et al.*, 1988a).

Ces chiens développent aussi des bronchopneumonies par fausse déglutition du fait de leur dysphagie, qui provoquent des détresses respiratoires majeures nécessitant souvent l'euthanasie (Ambrosio *et al.*, 2009; Bedu *et al.*, 2012). La courbe actuarielle de survie à l'UETM, 25 % de mort à 1 an, 50% à 2 ans et 75 % à 4 ans (Données personnelles S.Blot).

À tous les stades, les chiens de petite taille (Golden Retriever croisé Beagle) seraient moins atteints que les chiens de grande taille (Golden Retriever) (Valentine *et al.*, 1988a).

b) Lésions musculaires macroscopiques et microscopiques

i) Forme fulminante

Les muscles principalement touchés sont la langue, le diaphragme, les muscles intercostaux, le trapèze, le muscle brachiocéphalique, le deltoïde, l'extenseur radial du carpe et le sartorius. Macroscopiquement les muscles sont parcourus de bandes pâles disséminées. La mort est provoquée par une insuffisance respiratoire aiguë due à la nécrose des muscles respiratoires et à une hyperkaliémie liée à la rhabdomyolyse (Nguyen, 2001; Cordazzo, 2007).

Les lésions histologiques diffèrent en fonction des groupes musculaires touchés :

- La langue présente des lésions multifocales, marquées, relativement symétriques, affectant préférentiellement les faisceaux musculaires sous-épithéliaux latéraux et les faisceaux médians. Il y a une accumulation sarcoplasmique de calcium au sein des myofibres, couplée à une invasion par les macrophages des foyers nécrotiques. L'existence, chez les chiots d'un jour, de foyers de myofibres régénératives, nous montre que les lésions linguales ont débuté *in-utero*.
- Les lésions du diaphragme et des muscles intercostaux sont dominées par une nécrose aiguë massive. Au sein de ces foyers, sont retrouvées de nombreuses fibres calcifiées, mais aucune image de régénération musculaire. Un œdème endomysial massif est noté, alors que l'inflammation est discrète, ce qui indique une évolution péri-mortem.
- En ce qui concerne les muscles appendiculaires, du tronc et du cou, les lésions varient en fonction de l'âge du chiot.

Chez les chiots âgés d'un et deux jours, près de la moitié des muscles examinés montre des lésions de nécrose groupée des fibres, sans image de régénération. Ces foyers sont œdémateux, mais exempts d'inflammation. Le caractère aiguë de la nécrose indique que ces lésions sont survenues dans un court intervalle de temps autour de la naissance.

Chez les chiots âgés de cinq jours, tous les muscles précités présentent une nécrose subaiguë groupée des fibres. De volumineux amas de macrophages activés, dont l'activité phosphatase acide est marquée, infiltrent les faisceaux musculaires. Cette invasion massive du muscle par les macrophages nécessitant plusieurs jours, cela signe une apparition des lésions peu de temps après la naissance. Dans certains muscles une régénération se met en place.

Chez les chiots âgés de 6 à 7 jours, deux lésions indépendantes, de périodes d'apparition différentes, et réparties au hasard au sein des faisceaux sont notées. Il s'agit de fibres calcifiées, caractéristiques d'une lésion aiguë, et d'amas de fibres régénératives en phase tardive. La régénération groupée, qui fait suite à un épisode de nécrose groupée, indique que les chiots ont probablement subi une vague de nécrose autour du premier jour de vie (Nguyen, 2001).

ii) Forme classique

Pour la forme classique, lors d'autopsies, on remarque que de 3 à 4 mois une amyotrophie généralisée mais modérée est présente, associée à une couleur discrètement plus pâle et une consistance plus ferme des muscles. Ceci s'aggrave vers 6 mois où cette fois la pâleur et l'atrophie sont marquées et des travées jaunes sont incluses dans les muscles. Certains muscles sont au contraire hypertrophiés, c'est le cas de la langue, du sartorius, de la musculature œsophagienne et du diaphragme (Valentine et Cooper, 1991; Kornegay *et al.*, 2003).

Les lésions histologiques du chien GRMD sont très semblables à celles du patient DMD. Chez le jeune d'intenses cycles de nécrose-régénération se mettent en place, suivis par l'installation d'une fibrose importante (endomysiale et pérимыsiale) qui augmente petit à petit, pour être présente

de manière importante à partir de l'âge de 15 jours, et qui se stabilise vers l'âge de 6 mois. À cela s'ajoute la présence de fibres hyper-contractées, qui sont fréquentes chez le jeune et présentes de manière régulière chez l'adulte. Les fibres nécrotiques, hyper-contractées et en cours de régénération sont présentes à tous les âges. Les nécrotiques sont généralement peu nombreuses, leur nombre augmente du deuxième au trentième jour après la naissance, puis diminue à partir du soixantième jour, pour augmenter de nouveau à l'âge adulte et se stabiliser autour de 2 % de la totalité des fibres musculaires. Le nombre de fibres hyper-contractées présente un pic (19,1 % des fibres) à 15 jours après la naissance puis diminue à 4 % chez le chien GRMD adulte. Les fibres en cours de régénération ne sont pas détectables chez les chiots GRMD de 2 jours, mais elles sont nombreuses à 15 et 30 jours après la naissance (autour de 10 %), pour ensuite diminuer à 4,7 % chez le chien GRMD adulte. Comme chez le patient DMD et la souris *mdx* les muscles oculomoteurs ne sont pas touchés (Valentine *et al.*, 1990b; Cozzi *et al.*, 2001; Cordazzo, 2007; Barthélémy et Thibaud, 2012).

Le modèle GRMD est donc le plus proche, sur le plan phénotypique, du patient atteint de DMD. Sa grande taille, proche de celle d'un enfant DMD, ses similarités sur le plan clinique et histologique, en font un modèle de choix pour les essais pré-cliniques de stratégies thérapeutiques d'abord testées sur la souris *mdx*. Ceci a d'ailleurs déjà été évoqué dans la partie I.4). Malheureusement il s'agit d'un modèle coûteux, difficile d'obtention et de maintien. De plus les chiens GRMD présentent une grande variabilité inter-individuelle. Même s'ils vont tous présenter le tableau clinique décrit précédemment, l'intensité des signes cliniques, elle, est variable d'un chien à un autre. Certains chiens nécessitent d'être euthanasiés avant l'âge de 6 mois, à cause de l'évolution rapide de leurs symptômes (Barthélémy *et al.*, 2014). Alors que d'autres vivent jusqu'à 6 ans en n'exprimant que très peu de signes locomoteurs ou de dysphagie. Et bien sûr tous les intermédiaires sont possibles, ce qui rend l'évaluation d'un bénéfice thérapeutique complexe, ou en tout cas pourrait nécessiter un très grand nombre d'animaux (Valentine *et al.*, 1988a; Ambrosio *et al.*, 2009; Willmann *et al.*, 2009; Zatz *et al.*, 2015). Mais cette variabilité inter-individuelle est de moins en moins problématique car de nombreuses méthodes d'évaluation objectives et quantitatives ont été développées.

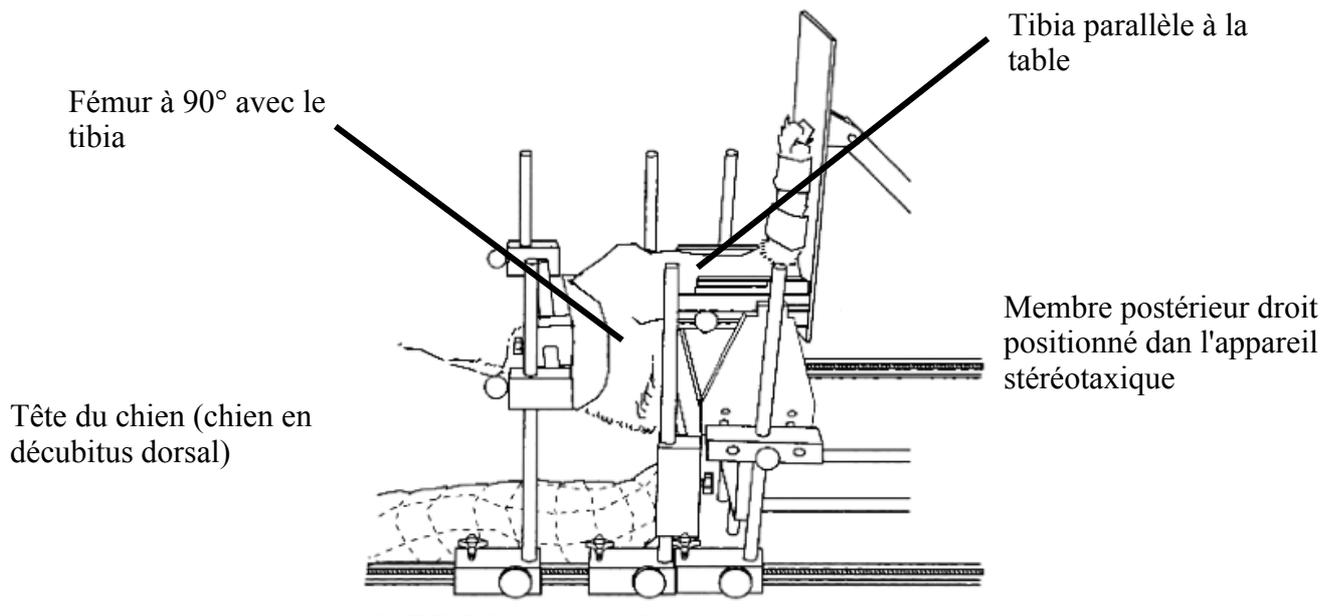
3) Méthodes d'évaluation du chien GRMD

Différentes méthodes ont été proposées pour évaluer les chiens GRMD, elles se sont pour certaines basées sur les méthodes d'évaluation des patients DMD.

a) Évaluation de la force musculaire

La première méthode développée, est une méthode qui permet de mesurer la force musculaire des chiens GRMD *in vivo*. Elle mesure la force ou le couple généré par la flexion ou l'extension du tarse (Kornegay *et al.*, 1999). Pour cela le chien anesthésié, est placé en décubitus dorsal, et les membres postérieurs sont placés alternativement, avec le tibia parallèle à la table et formant un angle de 90° avec le fémur, dans le cadre sur mesure de l'appareil stéréotaxique. Ce positionnement, dans l'appareil est représenté dans la figure 10.

Figure 10 : Position du chien dans l'appareil stéréotaxique lors de mesure de force



Le chien est placé en décubitus dorsal, le tibia est parallèle à la table et forme un angle de 90° avec le fémur. La stimulation nerveuse fait que le membre postérieur pousse (lors d'extension) ou tire (lors de flexion) sur un levier qui est en interface avec un transducteur et un couplemètre (Kornegay et al., 1999).

Des électrodes de stimulation sont ensuite placées distalement à la tête de la fibula, en regard du nerf fibulaire, et provoquent la flexion du tarse. Puis, entre les chefs du muscle gastrocnémien caudalement au genou, en regard du nerf tibial, et provoquent l'extension du tarse. Un protocole précis est utilisé permettant de produire soit une stimulation unique (secousse musculaire), soit un train de stimulation (tétanos fusionné). L'extension pousse sur le levier alors que la flexion le tire, et ceci est mesuré par un capteur de force ou un couplemètre qui sont en interface avec ce levier (Kornegay et al., 1999).

b) Évaluation de la fonction cardiaque

Des méthodes d'évaluation de la fonction cardiaque font appel à l'échographie et au doppler tissulaire. Il est possible en échographie conventionnelle de mesurer la fraction de raccourcissement, mais sa valeur ne chute que bien au-delà l'âge d'un an. Pour évaluer des chiens plus jeunes, il est possible d'utiliser le doppler tissulaire, via le gradient de vitesse myocardique, qui est la différence des vitesses endo- et épicaudique, normalisée par l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche (Chetboul et al., 2004a, 2004b). Plus récemment a été développé l'échocardiographie de suivi de pixel, cette technique semble prometteuse pour évaluer précisément la fonction cardiaque (Chetboul et al., 2007).

c) Grille de score clinique

Comme pour le patient DMD une grille de score clinique a été créée, à l'UETM (Cordazzo, 2007), qui permet une évaluation semi-quantitative. Elle comprend deux sous-parties, une sous-partie évaluant l'appareil digestif et respiratoire, et une autre évaluant l'appareil locomoteur. Au total 17 items sont évalués, 6 pour la sous-partie digestif et respiratoire, et 11 pour la sous-partie locomotion. Lorsque le chien est normal pour un item il reçoit la note 0, et la note 2 lorsqu'il correspond à l'état le plus grave de l'item (il est possible d'utiliser les notes 0,5 et 1,5). Un animal sain obtiendra donc la note de 0 alors qu'un chien myopathe peut théoriquement aller jusqu'à la note de 34 (mais pour des raisons éthiques, ils sont euthanasiés avant). La grille de score ainsi que les deux posters décisionnels pour les sous-parties digestif/respiratoire et locomoteur sont présentés respectivement en annexe 8, 9 et 10. Le seul matériel nécessaire est un marteau réflexe et un obstacle, facilement réalisable avec une barre placée à hauteur fixe, et la notation se réalise dans une pièce isolée et calme. Il n'est pas conseillé de réaliser plus de 10 scores à la suite. L'utilisation de cette grille de score demande donc peu de moyens techniques et financiers, mais elle nécessite un entraînement des évaluateurs et demeure criticable car elle comporte une part de subjectivité (Cordazzo, 2007).

d) Mesure de l'angle des articulations

La mesure des angles des articulations, à l'aide d'un goniomètre, a également été testée comme méthode d'évaluation chez le chien GRMD (Kornegay *et al.*, 2003; Pouyol, 2008). L'angle d'une articulation est mesuré en extension puis en flexion, on fait ensuite la différence entre ces 2 mesures pour obtenir l'amplitude. Cependant, cette mesure n'est que peu précise chez le chien, en effet la taille du chien, sa corpulence, sa musculature, et la densité/longueur de son pelage peuvent influencer les mesures (Pouyol, 2008), elle n'est donc pas utilisée actuellement en routine pour l'évaluation des chiens GRMD.

e) Imagerie par Résonance Magnétique

Une étude a commencé à montrer l'intérêt de l'imagerie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) pour l'évaluation des chiens GRMD. Il a été noté que les lésions dystrophiques étaient bien mises en évidence par l'imagerie par RMN. Différents paramètres peuvent être évalués avec l'imagerie par RMN :

- analyse qualitative : on objective une différence de forme entre les muscles des chiens sains et ceux des chiens GRMD qui sont plus anguleux, ainsi qu'une différence du signal, l'intensité est plus importante sur les muscles dystrophiques, et les muscles dystrophiques sont plus hétérogènes surtout en T2. On remarque aussi que la graisse sous-cutanée et intermusculaire est moins développée chez les chiens GRMD,

- analyse quantitative : peuvent être calculés des indices d'hétérogénéité, de signal, et des indices issus de la cinétique de rehaussement du signal après injection de Gd-DTPA (Gadolinium-Diethylene Triamine Pentacetate). Ces indices sont fortement discriminants en particulier sur l'extenseur radial du carpe et le chef médial du gastrocnémien (Thibaud *et al.*, 2007; Thibaud *et al.*, 2012 ; Barthélémy et Thibaud, 2012).

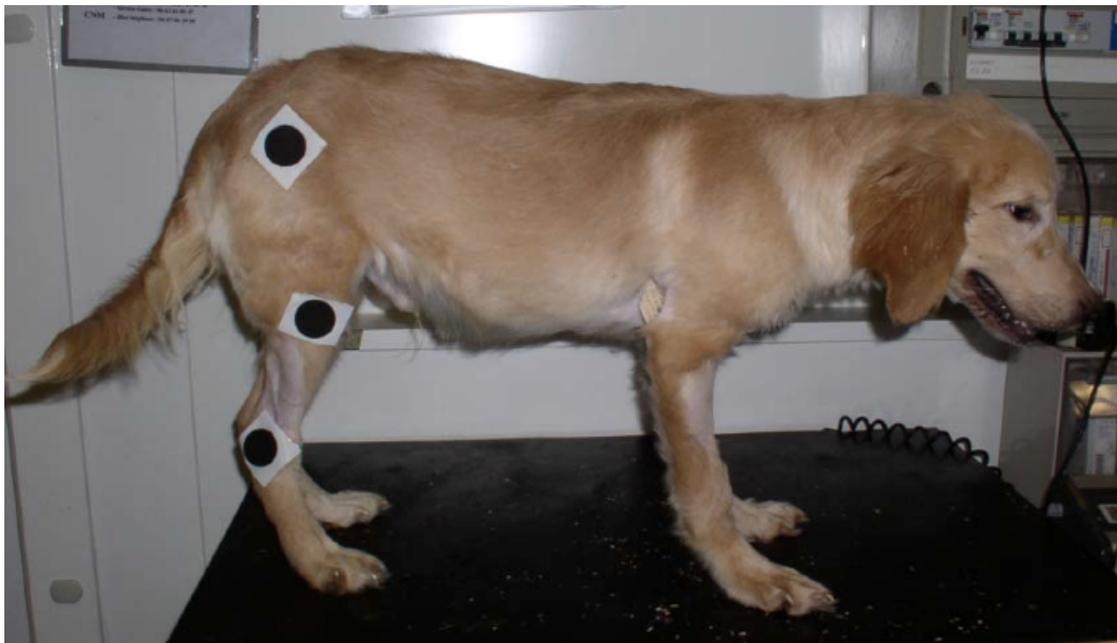
f) Analyse de marche

i) Cinématique

Une autre technique qui a été expérimentée est l'analyse biomécanique par cinématique des chiens GRMD sur tapis roulant. Pour cela il est nécessaire d'avoir un tapis roulant simple bande avec une surface adaptée (aucune protection pour coussinets à rajouter), une caméra, des marqueurs permettant de repérer les trajets osseux, ainsi qu'un système de traitement d'images qui permet l'examen quantitatif des trajets des segments de membres, par seuillage, extraction de contour des barycentres de trois marqueurs cutanés fixés au centre des articulations de la hanche, du genou et de la cheville des chiens, et par projection sur le plan passant par l'axe de l'animal.

Avant toute mesure, les chiens devaient être habitués à la marche sur tapis roulant. Avant chaque séance d'enregistrement l'animal était mesuré au niveau du garrot, cette mesure entrant dans la calibration du logiciel, les 3 marqueurs placés, un exemple de positionnement est représenté sur la figure 11. Le tapis était réglé à une vitesse de 1,5 km/h, et à cette vitesse tout les animaux évoluaient au pas. Les séquences d'enregistrement vidéo duraient 30 secondes avec 390 images à analyser par le logiciel. Plusieurs paramètres sont alors mesurables tels que des hauteurs, des amplitudes, des angles (Fanchon, 2003).

Figure 11 : Positionnement des 3 marqueurs articulaires



Le marqueur de la hanche est placé sur le grand trochanter, celui du genou sur la lèvre latérale de la trochlée, celui de la cheville sur la malléole latérale (Fanchon, 2003).

Cette technique n'a pas été retenue pour un usage courant en expérimentation. En effet, l'analyse cinématique en 2 dimensions ne peut fournir des résultats précis, les marqueurs étant fixés sur la

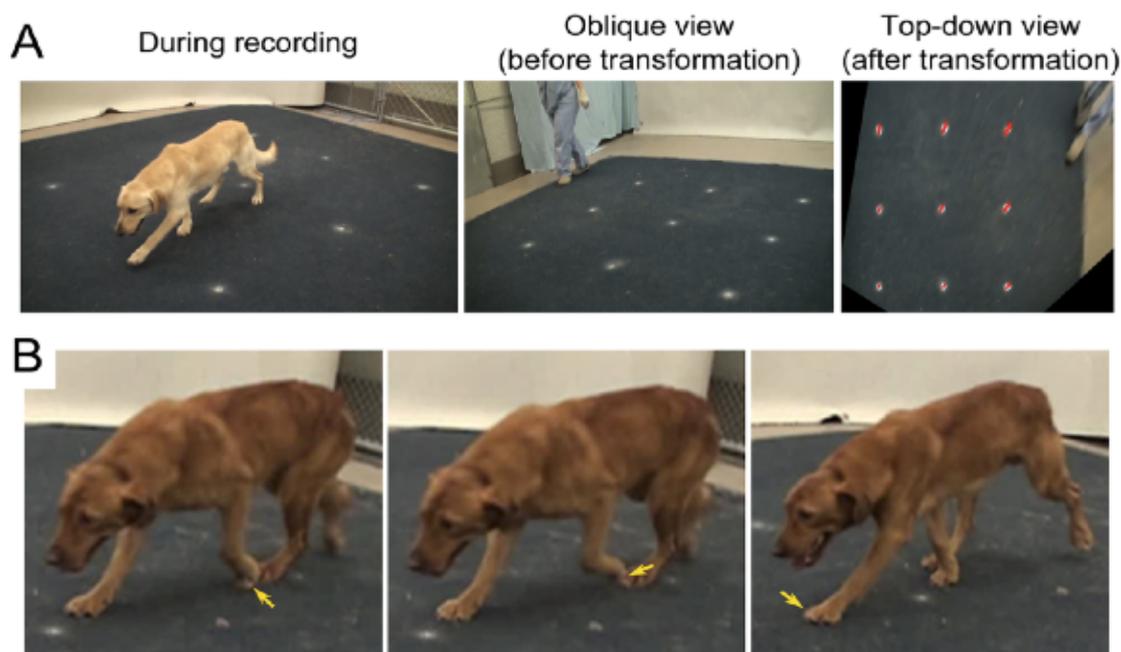
peau ne reflétant pas les mouvements réels des articulations du fait de la mobilité de la peau, du tissu sous-cutané et des muscles. Le temps d'habitué au tapis roulant est également très variable d'un chien à l'autre, et pour certains chiens il est très difficile d'atteindre une allure stable qui permet l'enregistrement (Fanchon, 2003).

Cependant, récemment deux équipes ont ré-expérimenté l'utilisation de la cinématique pour l'analyse de marche.

Pour cela la première s'est concentrée sur les articulations des membres pelviens. Des marqueurs réfléchissants ont été placés sur le grand trochanter (pour l'articulation de la hanche), à équidistance entre l'épicondyle latéral du fémur et la tête de la fibula (pour l'articulation du grasset), sur la malléole latérale distale du tibia (pour l'articulation du jarret), et distalement et latéralement au cinquième métatarsien (pour l'articulation métatarso-phalangienne). Pour plus de précision dans le placement des marqueurs les chiens avaient les membres pelviens tondu. La caméra utilisée était une DCR-TRV 18 de Sony avec une fréquence d'acquisition de 30 images par seconde, et le chien était filmé de côté et à sa hauteur. La vitesse de marche du chien était mesurée sur 2,4 mètres, mais il disposait de 3 mètres, avant et après cette zone de mesure, pour atteindre une vitesse et une démarche régulière avant l'enregistrement et pour ralentir une fois la zone d'enregistrement passée. L'arrière plan utilisé était le mur et le chien devait suivre une ligne parallèle à ce mur en étant tenu en laisse. L'analyse portait sur des cycles de marches complets, un cycle commençant par un membre pelvien touchant le sol, et se terminant lorsque le membre pelvien ipsilatéral touchait de nouveau le sol. Les logiciels *VideoExpert*, *Motion Analysis Corp* ® et *MATLAB* ® ont été utilisés pour obtenir les angles des articulations du grasset et du jarret, à partir du centre des marqueurs lumineux. Cette étude a donné des résultats plus exploitables que la précédente, en effet plusieurs passages du même côté pour un même chien ont donné des résultats similaires. Cette étude a mis en évidence que les chiens GRMD marchaient moins vite que les sains, qu'ils montraient la même amplitude de mouvements pour l'articulation du grasset, mais que celle-ci était plus en extension, et qu'ils présentaient une amplitude de mouvements diminuée pour l'articulation du jarret, et que celle-ci était plus fléchie (Marsh *et al.*, 2010).

La deuxième étude a utilisé deux caméras haute définition XR-500V de Sony (120 images par secondes), et les logiciels d'analyses suivant : *K-multimedia player* ® et *NIH ImageJ* ® (version 1.45). Les mesures ont été réalisées dans une pièce dont le sol était recouvert d'un tapis antidérapant, sur lequel étaient présents 9 marqueurs formant un carré et espacés chacun de 83,82 cm. Une caméra filmait le chien sur le côté (elle était placée à hauteur du grasset), et une le filmait d'un point de vue oblique (figure 12). Les chiens étaient passés chacun 3 fois sur 3 jours différents. La prise de vue oblique servait à obtenir la longueur de la foulée, sa vitesse et sa durée. Une foulée correspondant à l'intervalle entre le moment où la pointe d'un doigt quitte le sol et le moment où la pointe de ce même doigt touche de nouveau le sol (figure 12). En effet grâce aux marqueurs sur le sol cette vue oblique pouvait être transformée par le logiciel en vue d'en haut. La prise de vue de côté servait à mesurer les angles des articulations. Pour cela les points de repères utilisés étaient : pour le membre antérieur, le coude (la pointe caudale), le carpe (la pointe caudale) et l'articulation métacarpo-phalangienne ; pour le membre postérieur, le grasset (la pointe crâniale), le jarret (la pointe caudale) et l'articulation métatarso-phalangienne. La ligne de référence utilisée était le sol. Cette technique donne des résultats concordants avec celle utilisant l'accélérométrie qui sera évoquée ci après (Shin *et al.*, 2013).

Figure 12 : Vue oblique de la salle et transformation de l'image



(A) Prise de vue oblique pour l'enregistrement vidéo de mesure de la foulée, à gauche un chien pendant l'enregistrement, au centre vue oblique du tapis antidérapant avec des marqueurs de position, à droite image transformée vue de haut du tapis

(B) Exemple d'intervalle de référence pour une foulée, l'orteil de référence est montré par une flèche (Shin et al., 2013).

ii) Cinétique-tapis de marche

Une autre technique d'analyse de marche avait également été développée, à l'aide du tapis de marche GAITRite[®], qui est une piste de marche électronique initialement conçue pour enregistrer les paramètres temporels et spatiaux de la démarche d'un patient humain (cinétique), son utilisation a été validée chez le chien sain (Le Quang, 2005). Il était associé à un logiciel de marche développé pour les quadrupèdes nommé Gaitfour[®]. Il fallait, de même que pour le précédent tapis, habituer les chiens, à raison d'une session de 3-4 passages par semaine au cours des trois semaines précédant le début des mesures (sur un tapis de lino équivalent en taille). Avant chaque session de mesure, il était nécessaire de peser le chien, de mesurer les hauteurs antérieure et postérieure (distance séparant l'articulation de l'épaule / de la hanche, du sol chez un chien debout), et enfin de réaliser plusieurs passages sans enregistrement ce qui habituaient les chiens à ce tapis. Lors de l'enregistrement le chien devait marcher de manière continue et régulière sur la longueur du tapis, un minimum de 4 foulées régulières et complètes était nécessaire pour pouvoir analyser un passage, de ce fait pour une session plusieurs enregistrements étaient réalisés pour augmenter les chances d'obtenir un enregistrement interprétable. Puis différents paramètres étaient analysés :

- des paramètres temporels : cadence de la marche, vitesse d'une foulée, durée relative de l'appui,
- des paramètres spatiaux : amplitude angulaire globale de l'articulation de la hanche ou de l'épaule au moment de la marche, distance d'une foulée,
- des paramètres d'appui : pression maximale, nombre de capteurs activés.

Du fait de l'irrégularité des foulées des chiens GRMD, il était malheureusement difficile d'obtenir

des enregistrements interprétables (Pouyol, 2008). C'est cette difficulté qui rend l'utilisation de cette technique peu fréquente.

iii) Accélérométrie

La dernière technique évoquée, est l'analyse de marche par accélérométrie. Un accéléromètre permet de mesurer une accélération linéaire, dans une ou plusieurs directions. Ceci grâce à une « masse sismique », reliée via une suspension mécanique à un cadre, qui joue le rôle de cadre de référence. L'accélération peut alors être mesurée électriquement grâce aux changements physiques subis par la « masse sismique » suite aux mouvements par rapport au cadre de référence.

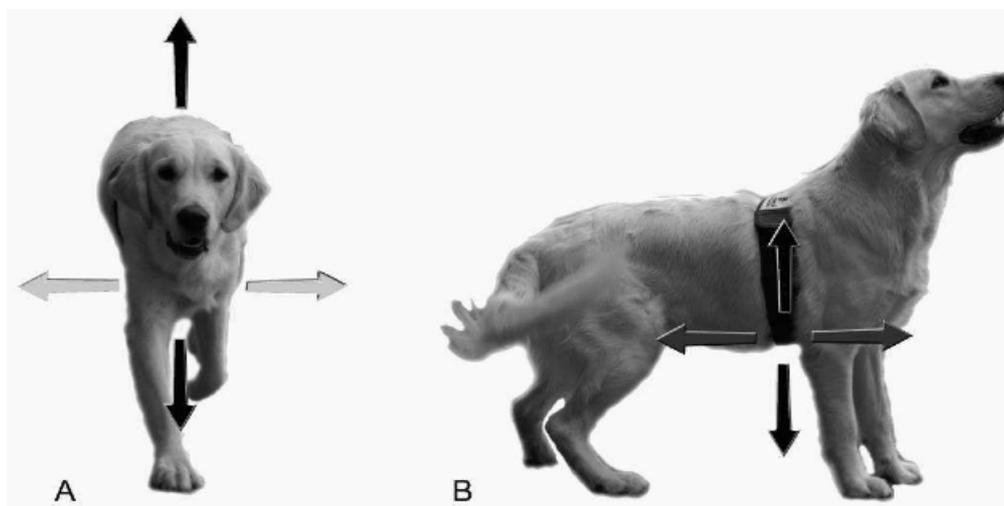
Elle a été faite à l'aide d'un Locometrix 3D ®, dans le cadre du développement de cette technique, dispositif commercialisé avec un logiciel de marche dédié et adapté aux quadrupèdes. Il est composé de 3 accéléromètres disposés orthogonalement les uns par rapport aux autres, ce qui permet un enregistrement des accélérations dans les axes cranio-caudal, dorso-ventral et médio-latéral. Sa fréquence d'enregistrement est de 100 Hz.

Le chien était porté jusqu'au couloir de marche qui mesurait 30 mètres de long, ceci dans le but d'éviter toute fatigue préalable au test. Le couloir pouvait être rallongé à 45 mètres pour les chiens sains. Le temps d'habituation au couloir et à l'équipement était réalisé durant quelques minutes avant le premier test. Le boîtier était inséré dans une ceinture fixée autour du thorax, et placé sous l'appendice xyphoïde du sternum (figure 13). L'opérateur devait faire avancer le chien à ses côtés sans laisse, l'allure et la vitesse étaient définies par le chien. L'opérateur encourageait le chien par la voix pour qu'il aille au maximum de ses capacités.

L'analyse se faisait sur 10,24 secondes de marche à une allure stable, et comprenait les paramètres suivants :

- la vitesse : chronométrée sur une distance de 5 mètres (délimitée sur le parcours), elle est normalisée par la hauteur au garrot,
- la fréquence des cycles locomoteurs : un cycle locomoteur correspond à 4 accélérations dorso-ventrales au pas, et 2 au trot ou au galop,
- la longueur de la foulée : distance parcourue au cours d'un cycle de marche, elle est également normalisée par la hauteur au garrot,
- la régularité : score normalisé qui quantifie la répétabilité des accélérations dorso-ventrales,
- la puissance totale : somme des puissances calculées dans les 3 axes,
- la puissance relative dans chaque axe : la puissance des accélérations dans chaque axe est rapportée à la puissance totale,
- la force relative : la puissance totale est rapportée à la vitesse (Barthélémy et Thibaud, 2012).

Figure 13 : Positionnement du dispositif sur l'animal et axes de mesure des accélérations



(A) Chien vu de face, les flèches noires schématisent l'axe dorso-ventral, et les flèches gris clair l'axe médio-latéral.

(B) Chien vu de profil, portant la ceinture dans laquelle est inséré le boîtier de mesure, placé en regard de l'appendice xiphoïde du sternum, les flèches noires schématisent l'axe dorso-ventral, et les flèches gris foncé l'axe cranio-caudal (Barthélémy et Thibaud, 2012).

Cette méthode d'évaluation comporte de nombreux atouts : la phase d'apprentissage est rapide, sa réalisation assez courte (15 minutes environ entre le moment où le chien était sorti de sa cage et celui où il y était remis), et même la phase d'analyse des tracés est rapide. Elle permet également de différencier les chiens sains des chiens GRMD, mais aussi les différents chiens GRMD entre eux et donc de mettre en évidence la variabilité inter-individuelle des GRMD de manière quantitative. Cette méthode n'a cependant pas été validée par comparaison directe avec les méthodes de référence qui sont la cinématique et la cinétique, elle manque également de reproductibilité inter-opérateur, ce qui fait qu'un même animal devra être suivi de préférence par un même opérateur au cours d'un essai thérapeutique. Pour finir, pour que la démarche puisse être étudiée, les chiens doivent réaliser une séquence de 10 secondes de marche régulière. Or pour des chiens atteints de manière importante ceci est impossible (parfois ils ne peuvent marcher que 5 secondes puis ils s'arrêtent, et repartent au bout de 10 secondes, ou parfois même les animaux sont incapables de marcher). Ces chiens doivent donc être sortis de l'étude ce qui provoque une perte importante d'information et de puissance statistique, lorsque l'analyse de marche constitue le critère d'évaluation principal d'un essai pré-clinique (Barthélémy et Thibaud, 2012).

D'autres méthodes d'évaluation des chiens GRMD sont en cours de développement, notamment des méthodes basées sur l'évaluation de leur activité. En effet, l'analyse de l'activité des chiens GRMD pourrait se réaliser même lorsque ceux-ci perdent ou commencent à perdre l'ambulation, et ainsi éviter la perte de données.

III Méthodes d'analyse de l'activité

Depuis plusieurs années des méthodes d'analyse de l'activité physique quotidienne se développent chez l'homme. En effet, elles permettent d'obtenir une évaluation et un suivi de l'état de santé d'une personne, notamment lorsque cette personne est atteinte de maladie cardiovasculaire, de diabète ou est obèse. La plupart sont subjectives, telles que des questionnaires, des sondages, ou encore, le fait de tenir un journal. D'autres tests ressemblant à ceux évoqués pour les patients atteints de DMD existent, mais ne permettent pas d'évaluer le quotidien des personnes testées. Des instruments de mesure objectifs ont donc été développés, comme le podomètre, mais, même si, celui-ci permet d'évaluer une distance parcourue, grâce à la mesure du nombre de pas réalisés, il ne permet en aucun cas de mesurer l'intensité du mouvement, ce qui rend inexacts les calculs d'énergie dépensée. La vidéo a également été testée, mais chez l'homme le problème de la vie privée se pose et rend impossible son utilisation en routine. La dernière méthode développée dans les années 1950 et approfondie dans les années 1970, qui semble répondre à toutes les problématiques précédemment évoquées, est l'accélérométrie (Mathie *et al.*, 2004; Yang et Hsu, 2010).

1) L'accélérométrie chez l'homme

Les plus utilisés pour l'évaluation de l'activité chez l'homme sont les accéléromètres piezoresistifs, piezoélectriques ou encore les accéléromètres capacitifs différentiels.

Les accéléromètres piezoresistifs permettent de mesurer une accélération constante telle que la force de gravité, mais leur inconvénient majeur est une sensibilité à la température et un faible signal émis.

Les piezoélectriques ne permettent pas de mesurer les accélérations constantes, mais ne sont pas sensibles à la chaleur et aux chocs.

Pour finir, les accéléromètres capacitifs différentiels présentent l'avantage de consommer peu d'énergie, de répondre rapidement au mouvement, et d'être sensibles aux mouvements discrets. Ils sont utilisés majoritairement pour les équipements destinés au grand public (Mathie *et al.*, 2004; Yang et Hsu, 2010).

Chez l'homme l'accéléromètre peut être placé à de nombreux endroits du corps, le choix de l'emplacement dépendra de ce qui est étudié. Lorsque ce sont les mouvements du corps entier qui sont étudiés, l'accéléromètre se place sur le sternum, le bas du dos ou encore à la taille (Meijer *et al.*, 1991; Najafi *et al.*, 2003; Karantonis *et al.*, 2006). La taille est la localisation la plus fréquemment utilisée, en effet elle est proche du centre de gravité du corps humain. De plus, un accéléromètre peut facilement être attaché à une ceinture, et de cette manière ne gêner que peu la personne dans ses mouvements (Sekine *et al.*, 2000; Karantonis *et al.*, 2006; Yang et Hsu, 2010).

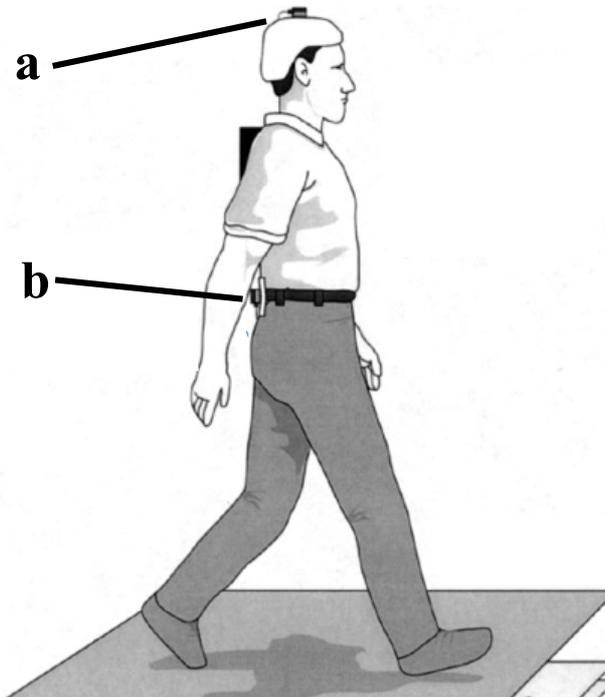
Pour évaluer le sommeil, l'accéléromètre peut être placé sur la poitrine si l'objectif est d'évaluer la courbe respiratoire et les ronflements dans le cadre d'apnée du sommeil. Il peut être placé au poignet s'il s'agit de déterminer le temps de sommeil, ou l'activité durant le sommeil (Liszka-Hackzell et Martin, 2005; Morillo *et al.*, 2010).

Lors d'analyses précises de marche chez l'homme, l'accéléromètre est placé à la cheville, il est alors possible d'obtenir le nombre de pas, la distance parcourue, la vitesse et la dépense énergétique (Yang et Hsu, 2010).

D'autres localisations, plus anecdotiques, ont été réalisées, notamment sur la tête, dans le but de repérer une chute (l'accéléromètre est alors porté constamment par la personne âgée dans sa prothèse auditive), ou de mesurer l'équilibre lors de la marche (également dans le but de prévoir les

chutes chez les personnes âgées) (Menz *et al.*, 2003a, 2003b; Lindemann *et al.*, 2005). Une fois la localisation choisie, l'accéléromètre peut être attaché directement sur la peau (Najafi *et al.*, 2003; Lindemann *et al.*, 2005), ou à l'aide de ceintures, de scratchs, de bracelets, ou de nombreux autres dispositifs (Sekine *et al.*, 2000; Menz *et al.*, 2003b; Liska-Hackzell et Martin, 2005; Karantonis *et al.*, 2006; Morillo *et al.*, 2010). Deux de ces exemples sont illustrés en figure 14. Certains peuvent même être intégrés dans des vêtements (Noury *et al.*, 2004). Peu importe le choix de la fixation, celle-ci doit être suffisante pour que l'accéléromètre ne subisse aucun mouvement supplémentaire par rapport aux mouvements du corps. Si elle ne l'était pas, cela causerait un signal artéfactuel enregistré par l'accéléromètre qui dégraderait la précision de celui-ci (Yang et Hsu, 2010).

Figure 14 : Exemple de 2 positions possibles d'un accéléromètre



(a) l'accéléromètre est fixé sur la tête grâce à un casque, (b) l'accéléromètre est fixé à la taille via l'intermédiaire d'une ceinture (Menz *et al.*, 2003b).

L'une des principales utilisations de l'accélérométrie est la mesure de l'activité d'un individu dans un environnement libre et sur le long terme. Celle-ci permet de mesurer son activité ainsi que ses variations, au cours d'une journée, d'heure en heure. Elle peut aussi bien mesurer des activités locomotrices, d'entretien ou encore l'activité durant le sommeil. Pour obtenir cette mesure d'activité, le signal peut être traité de la manière suivante : il faut d'abord lui retirer la composante gravitationnelle de l'accélération, puis il est ensuite possible de calculer le Vecteur Magnitude (VM), qui correspond à la somme des accélérations sur les 3 axes, de la manière suivante (Meijer *et al.*, 1991; Liska-Hackzell et Martin, 2005; Plasqui et Westerterp, 2007; Morillo *et al.*, 2010; Ohkawara *et al.*, 2011) :

$$VM = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$$

Il est, par la suite, possible d'être plus précis et de reconnaître les différentes activités réalisées par

l'individu portant l'accéléromètre, par exemple lorsqu'un individu marche, est couché, fait le ménage, tombe... Des algorithmes ont même été créés permettant de différencier ces différentes activités automatiquement (Mathie *et al.*, 2004; Lindemann *et al.*, 2005; Allen *et al.*, 2006; Karantonis *et al.*, 2006; Ohkawara *et al.*, 2011).

Elle permet aussi, via les données récoltées précédemment citées, de calculer la dépense énergétique d'un individu. Cependant, cette dépense est estimée, et la formule permettant une parfaite corrélation avec les méthodes calorimétriques n'a pas encore été découverte. Pour le moment, elle est calculée en réalisant la somme des intégrales des magnitudes de chaque axes. Ce qui n'empêche pas son utilisation pour autant. En effet, même si cette méthode est moins précise, elle est beaucoup moins chère et plus facile d'utilisation que la calorimétrie. C'est pourquoi cette technique s'est développée pour le grand public, avec l'arrivée sur le marché depuis quelques années des bracelets connectés, comme par exemple le bracelet fitbit® (Mathie *et al.*, 2004; Crouter *et al.*, 2006; Plasqui et Westerterp, 2007; Yang et Hsu, 2010).

Nous l'avons évoqué précédemment, de nombreuses manières d'évaluer les patients DMD existent, mais aucune d'entre elles ne permet d'évaluer la qualité de vie des patients. Ces tests ne reflètent malheureusement pas parfaitement les capacités fonctionnelles et l'endurance des patients, qui, lorsqu'elles sont diminuées, influencent de manière négative leur qualité de vie au quotidien. L'accélérométrie grâce aux paramètres qu'elle mesure peut répondre à cette problématique.

En effet, l'accéléromètre étant petit, il peut être porté toute une journée par un patient DMD sans provoquer de gêne (par exemple accroché sur la poitrine à son tee-shirt, tee-shirt qui doit être près du corps, ou au poignet pour des patients non ambulants).

Grâce aux algorithmes évoqués précédemment, il est possible de connaître le pourcentage de temps passé assis, debout, couché, à marcher, actif (debout et à marcher), au repos (allongé et assis), ainsi que le nombre de transitions des phases de repos aux phases actives.

La marche peut également être évaluée, à travers le nombre, la durée et la cadence des épisodes de marche, la détermination de la durée maximale de marche continue, de la durée maximale de marche quasi-continue (lorsque plusieurs épisodes de marche continue se suivent séparés par des pauses debout immobile inférieures à 30 secondes), du nombre de pas, du pourcentage de temps actif précédé et suivi de courtes périodes de repos, ainsi que du temps passé à marcher à différentes vitesses : lente (1 à 15 pas par minutes), modérée (16 à 30), rapide (31 à 60) et très rapide (plus de 60).

Il est de plus possible d'obtenir une répartition temporelle des différents comportements au cours d'une journée, et de calculer le paramètre « *burstiness* », qui permet d'obtenir la répartition d'épisodes de marche de plus d'une minute sur un temps défini. Chaque début d'épisode de marche de plus d'une minute est considéré comme un événement, et Δi représente le temps entre les différents épisodes de marche de plus d'une minute. La distribution des durées des Δi permet alors de calculer le paramètre *burstiness* (B) :

$$B = \frac{\sigma(\Delta i) - \text{moy}(\Delta i)}{\sigma(\Delta i) + \text{moy}(\Delta i)}$$

Ce paramètre compris entre -1 et 1, indique une activité de marche soutenue sur la période étudiée lorsqu'il est proche de 1.

Tous ces paramètres sont de nouveaux moyens très prometteurs d'évaluation du patient DMD. En effet, ils donnent des informations plus proches de la réalité de sa vie au quotidien, mais leur réelle utilité lors de l'évaluation des patients, au cours d'essais thérapeutiques, reste encore à prouver (Jeannet *et al.*, 2011).

2) L'actimétrie chez le chien

Chez le chien, l'utilisation de l'accélérométrie, en tant que méthode d'évaluation de l'activité, notamment pour calculer la dépense énergétique, est plus récente que chez l'homme. En effet, d'autres techniques permettant de l'évaluer sont applicables chez le chien. Du fait de leur mode de vie en chenil, pour la plupart des chiens étudiés, et de l'absence du problème de la vie privée relatif à l'homme, il est possible d'évaluer leur activité en les observant, ou en les filmant durant des périodes définies.

Lors de l'observation ou du visionnage de vidéos, il est possible à intervalle de temps régulier de réaliser des « scans » : il s'agit d'observer le comportement du chien, ou/et sa position à un instant t_0 . Par exemple sur une période de 12 minutes, on décide de noter le comportement du chien toutes les 20 secondes, ou sur une période de 6h, de noter le comportement du chien toutes les heures. À la suite des « scans », on obtiendra le nombre de fois qu'un comportement a été réalisé sur le nombre de « scans » total et ceci pour tous les comportements listés. On peut ensuite regrouper ses comportements selon des items plus larges tels que : interactions positives, négatives, comportements de maintenance (Yamada et Tokuriki, 2000; Normando *et al.*, 2014; Protopopova *et al.*, 2014; Bowman *et al.*, 2015). Une des études utilisant cette méthode a pu montrer que l'augmentation de l'espace alloué à un chien en chenil entraînait une augmentation d'activité de celui-ci (Normando *et al.*, 2014).

Avec la vidéo, il est également possible d'aller plus loin. Grâce à des logiciels d'éthologie, on peut obtenir, sur une période donnée, la répartition des différents comportements effectués par le chien. Chez le rat et la souris, ces logiciels ont même été perfectionnés au point de pouvoir reconnaître leur différents comportements de manière automatique (« EthoVision® XT Automatic Behavior Recognition », s. d.), ce qui n'est malheureusement pas encore le cas chez le chien. Pour le chien, il est nécessaire de visionner la vidéo entièrement et d'entrer manuellement le début d'un comportement, ceci se réalise par l'intermédiaire d'un clavier lié au logiciel d'éthologie. Lorsque l'opérateur observe un comportement, au début de celui-ci, il appuie sur la touche correspondant à ce comportement, le logiciel considèrera que le chien réalise ce comportement jusqu'à ce que l'opérateur appuie sur la touche d'un autre comportement. Cette technique est chronophage et est donc plutôt réalisée sur de courts enregistrements, par exemple il est possible de filmer un chien durant 30 minutes dans sa cage, et ensuite d'analyser la vidéo via le logiciel d'éthologie qui permettra d'obtenir le pourcentage de temps passé à réaliser un comportement ou encore la fréquence d'un comportement. Ces logiciels peuvent également fournir la distance parcourue par l'animal filmé, sa vitesse de déplacement et les zones qu'il a visitées (« EthoVision® XT Automatic Behavior Recognition », s. d.; Hansen *et al.*, 2007; Hiby *et al.*, 2006; Part *et al.*, 2014).

L'inconvénient majeur de ces techniques, plus marqué pour la deuxième technique que pour la première, est qu'elles sont chronophages, surtout si elles devaient être mises en place au long cours pour le suivi d'essais thérapeutiques. Un autre inconvénient, mais qui ne concerne pas les chiens en chenil, est que ces techniques sont difficilement, voire non applicables aux chiens de propriétaires/en liberté, en effet ceux-ci disposant d'un espace non restreint sont difficiles à observer ou à filmer dans leur milieu de vie. C'est pourquoi l'accélérométrie s'est développée depuis quelques années pour évaluer l'activité de nos compagnons.

Les accéléromètres utilisés dans les études d'activités chez le chien sont majoritairement des accéléromètres piézoélectriques, qui peuvent avoir été créés uniquement pour le chien (Wrigglesworth *et al.*, 2011), ou être semblables à ceux utilisés pour les études chez l'homme (Yamada et Tokuriki, 2000; Hansen *et al.*, 2007; Dow *et al.*, 2009; Yam *et al.*, 2011). Ils possèdent une fréquence d'acquisition de 10 Hz (Yamada et Tokuriki, 2000; Wrigglesworth *et al.*, 2011), et une étude a montré que les mouvements de la tête et des membres des chiens étaient mieux perçus

par l'accéléromètre lorsque celui-ci présentait un seuil de 0,02 g (Yamada et Tokuriki, 2000).

L'accéléromètre peut être placé à différents endroits du corps du chien, illustrés figure 15 : sur la partie latérale du thorax, sous le sternum, sous l'abdomen, ou encore à l'avant de l'épaule, maintenu dans une poche d'un gilet, sur la partie latérale du carpe ou de l'humérus maintenu à l'aide de bandes élastiques, dorsalement ou ventralement au cou, attaché au collier, ou fixé au garrot à l'aide de bandes élastiques sécurisées par l'ajout d'un gilet. Il a été montré que ces différentes localisations, hormis celle latérale à l'humérus, fournissaient les mêmes informations sur l'activité du chien (Yamada et Tokuriki, 2000; Hansen *et al.*, 2007). La fixation de l'accéléromètre ventralement au collier étant la plus simple à réaliser, elle a donc été privilégiée dans d'autres études (Dow *et al.*, 2009; Wrigglesworth *et al.*, 2011).

Figure 15 : Différentes localisations possibles pour l'accéléromètre chez le chien



(a) attaché au collier, dorsalement au cou, (b) attaché au collier, ventralement au cou, (c) dans une poche du gilet, latéralement au thorax, (d) dans une poche du gilet, crânialement à l'épaule, (e) attaché à l'aide d'une bande élastique, latéralement à l'humérus, (f) attaché à l'aide d'une bande élastique, latéralement au carpe, (g) dans une poche du gilet ventralement au sternum, (h) dans une poche du gilet, ventralement à l'abdomen (Hansen *et al.*, 2007).

Comme pour l'homme, il est nécessaire de retirer la composante gravitationnelle de l'accélération. Puis, le Vecteur Magnitude (VM) peut être calculé, comme pour l'homme on a :

$$VM = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$$

On peut alors réaliser la somme des VM sur une minute, ou encore sur 24 heures, pour obtenir une valeur d'activité (Yamada et Tokuriki, 2000; Hansen *et al.*, 2007; Wrigglesworth *et al.*, 2011).

Une étude a également prouvé qu'il existe une association entre le besoin énergétique de maintenance (BEM) et l'activité, lorsque celle-ci est évaluée à l'aide de l'accélérométrie. Wrigglesworth *et al.* ont même mis au point une formule qui relie ces deux paramètres ainsi que le poids de l'animal :

$$BEM = (61,3103 \times Poids) + (0,00998611 \times activité) - 1032,67$$

Cette formule reste cependant imprécise et doit être perfectionnée, elle pourrait prendre par exemple en compte le pourcentage de masse grasse ou de masse maigre du chien (Wrigglesworth *et al.*, 2011).

Même si l'accélérométrie n'est pas encore l'outil approprié pour permettre de prédire le besoin énergétique des chiens de compagnie, dans le but d'adapter plus facilement la quantité de nourriture distribuée à leur besoin, elle semble être un outil novateur et précieux pour mesurer leur activité journalière. Elle présente de plus plusieurs avantages quant à son utilisation : l'accéléromètre est petit, se positionne facilement sur la partie du corps du chien désirée par l'opérateur, possède une autonomie ainsi qu'une capacité d'enregistrement de longue durée, et le traitement des données obtenues semble simple de réalisation.

3) L'actimétrie chez le chien dystrophique

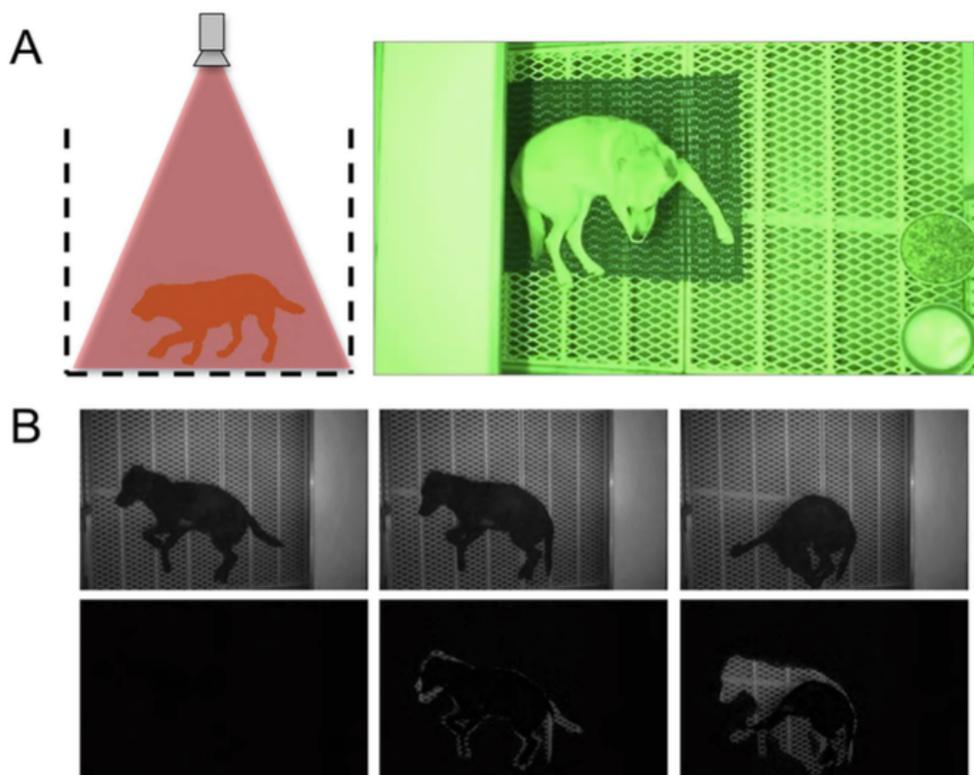
En ce qui concerne les chiens GRMD, quelques études ont tenté d'évaluer leur activité, mais sans que cela ait été concluant.

On a d'abord essayé de mesurer l'activité de chiens GRMD laissés par groupe de deux dans une cage à l'aide de vidéo, mais de nombreux problèmes techniques ont été rencontrés quant à l'enregistrement des vidéos. De plus, l'utilisation du logiciel Labwatcher ® nécessitait un entraînement important, et l'analyse des vidéos était beaucoup trop chronophage, donc non réalisable en technique de routine (Cordazzo, 2007).

Plus récemment, la vidéo a été utilisée pour évaluer l'activité de chiens dystrophiques (croisement entre un mâle LMD (Labrador Muscular Dystrophy) et une femelle GRMD) durant la nuit (période durant laquelle il n'y a pas de stimulation extérieure aléatoire). Une caméra haute définition (XR-500V de Sony, enregistrant 120 images par secondes), équipée d'une lentille Sony G et d'un capteur Exmor RTH CMOS (permettant un enregistrement en ambiance nocturne), était placée au dessus de la cage (figure 16) et enregistrait l'activité des chiens de 19h à 5h du matin. Les images étaient ensuite récupérées toutes les 3 secondes et traitées par les logiciels NIH ImageJ ® (version 1.45) et Movie S5 ®. Un mouvement était enregistré lorsque le déplacement dépassait la variation du fond, un exemple est présent en figure 16.

Il a été possible d'obtenir sur les nuits la fréquence des mouvements et leur quantité pour chaque chien (4 chiens sains et 3 chiens dystrophiques) au cours des 3 nuits différentes où ils ont été enregistrés. Cette étude tendrait à montrer que les chiens atteints sont moins actifs que les chiens sains durant la nuit. Les chiens sains passeraient 20 % du temps de l'enregistrement à changer de position alors que les chiens dystrophiques n'en passeraient que 10 %. Mais cette étude a été réalisée sur trop peu de chiens, et ils n'étaient pas appariés en ce qui concerne le sexe (Shin *et al.*, 2013).

Figure 16 : Position de la caméra et exemple de traitement des images par le logiciel



(A) À gauche schéma représentant la position de la caméra par rapport au chien dans la cage, à droite exemple d'une image prise par la caméra durant la nuit.

(B) Les 3 images supérieures représentent les positions du chien à 3 moments différents de la nuit, les 3 images inférieures sont traitées par le logiciel. À gauche, lorsque le chien n'a pas changé de position, l'image traitée ne montre aucun signal (fond noir), au milieu et à droite, lorsque le chien à changé de position, la différence entre l'image actuelle et la précédente est mise en évidence par un signal gris / blanc sur fond noir (Shin et al., 2013).

Un système utilisant un capteur infrarouge (Supermex®) a également été testé. Le but était de comparer l'activité de deux chiens CXMD_j, dont un seul de ces deux chiens avait reçu un traitement de thérapie génique. Ils ont tous les deux été évalués sur 5 jours et 5 nuits (12h de jour), et la moyenne de leur activité locomotrice spontanée calculée. L'estimation de l'activité semblait montrer une différence entre le chien traité, qui semblait plus actif, et le chien témoin. Mais cette étude n'ayant été réalisée que sur deux chiens ne permet pas de valider cette méthode (Hayashita-Kinoh et al., 2015).

La majorité des essais d'évaluation de l'activité chez les chiens dystrophiques s'est jusqu'à maintenant montrée peu concluante. En effet leur réalisation la nuit peut minimiser la différence entre les chiens, et souvent le traitement des informations s'est avéré compliqué. Cependant même lorsque les enregistrements sont réalisés la nuit, il semble possible de mettre en évidence une différence d'activité, entre chiens sains / chiens dystrophiques ou chiens dystrophique traité ou non (Shin *et al.*, 2013; Hayashita-Kinoh *et al.*, 2015). Il serait alors intéressant de se demander si cette différence d'activité serait plus marquée lors d'analyse d'activité au cours de la journée, les chiens étant plus actif durant la journée comparé à la nuit. Ainsi que de tester d'autres méthodes d'analyse de l'activité possiblement plus simple de réalisation et moins couteuses.

DEUXIEME PARTIE

L'analyse de marche est l'une des principales méthodes d'évaluation des chiens GRMD inclus dans des protocoles de recherche thérapeutique. Or nous avons évoqué précédemment le principal inconvénient de cette méthode : les chiens GRMD doivent être capables de marcher 10 secondes de manière continue et régulière. Mais certains chiens GRMD, alors même qu'ils sont encore ambulateurs ne sont plus capables de réaliser ces 10 secondes de marche régulière, ce qui cause leur sortie des protocoles, et donc une perte importante de données. Le but de cette étude est de mettre en place une autre technique d'évaluation qui permettrait de limiter la perte d'information sur la fonction motrice de ces animaux dans les protocoles. Pour cela, nous avons utilisé l'actimétrie, à l'aide de l'accélérométrie et de la vidéo, pour évaluer l'activité globale d'un chien laissé seul dans une pièce durant 2 heures. L'accélérométrie a été utilisée dans cette étude en tant que méthode de référence d'actimétrie. Nous lui avons confronté deux méthodes alternatives basées sur de l'analyse vidéo, la première utilisant des « scans » vidéo toutes les 5 minutes et la seconde utilisant des abaques accélérométriques de comportements créés à l'aide de la vidéo, dans l'objectif de déterminer laquelle des trois méthodes serait la plus adaptée à l'évaluation de chiens GRMD.

Une étude préliminaire avait été réalisée par une étudiante vétérinaire en stage au laboratoire, Marion Davidson (MD). Cette étude était basée sur des enregistrements accélérométriques des animaux durant 2 heures, mais dans leur cage habituelle. Les résultats obtenus, bien qu'analysés de manière incomplète, ne semblaient pas mettre en évidence de différence d'activité notable entre les chiens sains et GRMD. L'hypothèse d'une taille de cage trop réduite pour permettre aux chiens, même sains, de présenter une activité importante a alors été émise, justifiant de modifier les conditions de test (pièce plus spacieuse) dans la présente étude. Les données des deux études seront comparées dans le travail présenté ici, afin de déterminer si, conformément à notre hypothèse, l'agrandissement de l'espace disponible a un effet significatif sur l'activité mesurée.

En parallèle, Inès Barthélémy (IB), a lancé une étude longitudinale comprenant des enregistrements accélérométriques mensuels réalisés dans cette pièce spacieuse sur des chiens au cours de leur première année (2 à 12 mois) présentant différentes formes cliniques, dans le but de déterminer si cette méthode pourrait permettre de suivre la dégradation des animaux au cours de leurs premiers mois, notamment ceux perdant la locomotion.

I Matériel

1) Animaux

a) Évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD

Lors de cette étude, les mesures ont été réalisées sur 11 chiens :

- Quatre chiens sains (Fébrèze 4,6 ans (54,7 mois), Haribo 2,6 ans (31,7 mois), Hello 2,4 ans (29,1 mois) et Ioda 1,5 ans (17,8 mois)),
- Sept chiens GRMD (Fakir (forme modérée) 4,2 ans (50 mois), FBI (forme modérée) 4,1 ans (48,8 mois), G'oulu (forme modérée) 2,9 ans (34,4 mois), Guignol (forme modérée) 3,2 ans (38 mois), Guizmo (forme modérée) 3,4 ans (40,6 mois), Hipo (forme intermédiaire, avec une perte ou quasi-perte de locomotion après leurs 6 mois) 2,6 ans (31,2 mois) et Iop (forme modérée) 1,5 ans (17,8 mois)).

La moyenne d'âge des chiens sains était de 33,3 mois (avec un écart type de 15,5 mois) et celle des chiens GRMD de 37,3 mois (avec un écart type de 11,1 mois).

Les 4 chiens sains et 7 GRMD étaient appariés 2 par 2 pour les mesures, en fonction de l'âge et du caractère. Un couple de GRMD appariés de la même manière a également été utilisé suite au décès d'Hipo après uniquement 2 jours de mesure, qui a également conduit à passer Haribo en binôme avec un autre GRMD. Les chiens passant par paire sur une semaine, l'appariement avait pour but de mettre des chiens d'âge et de tempérament aussi proche que possible dans les mêmes conditions d'enregistrement, ceci afin d'éviter les différences entre sains et GRMD qui ne seraient dues qu'au tempérament ou à l'âge de l'animal. Par exemple, si les chiens sains jeunes et très agités étaient passés avec les chiens GRMD âgés et calmes, nous aurions pu obtenir une différence d'activité GRMD / sains alors que celle-ci était liée au tempérament et à l'âge des chiens. Le tableau 2 ci après reprend le listing des animaux inclus avec leur date de passage.

Tableau 2 : Synthèse des chiens inclus dans le protocole, associé à leur date de passage

Chiens inclus	Statut	Âge au passage (en mois)	Semaine de passage	Remarque
Hello	Sain	29,1	07/08/14	
Guignol	GRMD	38	07/08/14	
Haribo	Sain	31,3	13/10/14	Uniquement 2 jours de mesures pour cause de problème de santé d'Haribo puis de Hipo
Hipo	GRMD	31,2	13/10/14	
Fébrèze	Sain	54,7	20/10/14	
FBI	GRMD	48,8	20/10/14	
Haribo	Sain	31,7	27/10/14	Deuxième passage d'Haribo avec un autre GRMD
Guizmo	GRMD	40,6	27/10/14	
G'oulu	GRMD	34,4	03/11/14	
Fakir	GRMD	50	03/11/14	
Ioda	Sain	17,8	13/04/15	
Iop	GRMD	17,8	13/04/15	

b) Comparaison de deux conditions d'expérimentation : effet de l'espace alloué

Nous avons également voulu comparer nos données à celles obtenues lors des expériences précédentes de Marion Davidson, afin de déterminer l'effet de l'espace disponible sur l'activité. Pour cela nous avons uniquement analysé les données correspondant aux chiens suivants : G'oulu, Guignol, Guizmo, Haribo, Hello et Hipo. Ces chiens ont en effet participé aux deux études.

c) *Suivi longitudinal de l'activité des chiens*

En parallèle 16 chiens ont été utilisés pour une étude longitudinale (10 mois) :

- Quatre chiens sains : Jpeg, Ioda, Jappy et Jackpot,
- Trois chiens GRMD avec une forme accélérée (Barthélémy *et al.*, 2014) associée à une perte de locomotion avant l'âge de 6 mois : Jungle, Junky et Jedeau,
- Deux chiens GRMD avec une forme intermédiaire associée à une perte ou quasi-perte de locomotion mais plus tardive après leurs 6 mois : Ibou et Jncko,
- Sept chiens GRMD avec une forme modérée (Barthélémy *et al.*, 2014) : Jintonic, Jigoto, Jvago, Jybraltar, JT, JO et Iop.

Ces chiens ont été soumis au protocole de mesure une fois par mois (autour du jour de leur naissance) durant 10 mois, à partir de l'âge de 2 mois et jusqu'à 12 mois, ou jusqu'à leur décès lorsque celui-ci est survenu plus tôt. Le tableau 3 fait un résumé des chiens ayant participé au suivi longitudinal.

Tableau 3 : Synthèse des chiens inclus dans le suivi longitudinal

Chiens inclus	Statut	Nombre de passages
Jungle	Forme accélérée	6
Junky		
Jedeau		
Ibou	Forme intermédiaire	9
Jncko		6
Jintonic	Forme modérée	11
Jigoto		11
Jvago		12
Jybraltar		12
JT		12
JO		11
Iop		12
Jpeg	Sains	12
Ioda		
Jappy		
Jackpot		

2) Locaux

a) *Évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD*

Les mesures ont été réalisées dans une pièce fermée, sans fenêtre, de 3,43 m × 4,79 m soit 16,43 m². Dans cette pièce étaient disposés 2 jouets familiers pour les chiens : une balle de tennis et un jouet de type « kong » ®, ainsi qu'un lieu de couchage (panier avec des copeaux similaires à ceux présents dans les cages d'hébergement) et une gamelle d'eau. La Figure 17 montre la disposition des différents éléments dans la pièce.

Ne disposant que d'un accéléromètre et d'une pièce de cette dimension, les mesures ont été réalisées sur les chiens les uns après les autres.

Figure 17 : Présentation de la pièce utilisée pour les mesures



Cette pièce de 16,43 m² comporte 2 portes, celle identifiée donnant sur le couloir et celle par laquelle la photographie a été prise donnant sur le sas, sont disposés dans cette pièce : une gamelle d'eau, 2 jeux (un « kong » et une balle de tennis), ainsi qu'un lieu de couchage (panier contenant de la litière) (source personnelle).

b) *Comparaison de deux conditions d'expérimentation : effet de l'espace alloué*

Au cours de l'étude de Marion Davidson, le chien était laissé dans une même cage du chenil, qui était réservée à ces tests le temps de réaliser l'ensemble des mesures. Les dimensions de la cage utilisée étaient de 1,20 m de large par 1,40 m de long, soit une surface totale de 1,68m².

c) Suivi longitudinal de l'activité des chiens

En ce qui concerne l'étude longitudinale sur 10 mois, la pièce utilisée était la même que celle de l'étude principale, mais elle ne comportait qu'une gamelle d'eau uniquement.

3) Équipement

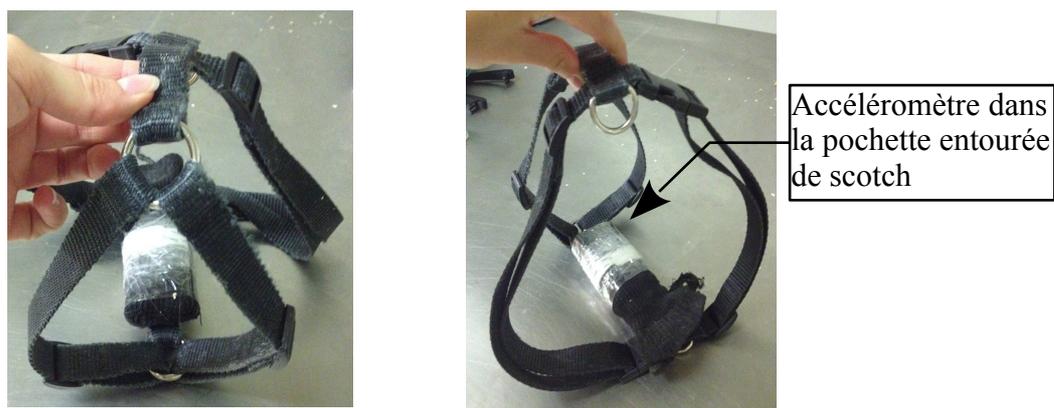
L'accéléromètre utilisé dans le cadre de notre étude était le Locométrie 3D ®, capteur d'accélération triaxial piézoélectrique, permettant des mesures en temps réel et en parfaite autonomie à une fréquence d'acquisition de 100 Hz. Cet appareil était associé au logiciel d'analyse de marche Equimetrix ®, développé par la même entreprise. Cet accéléromètre de petite taille a déjà été utilisé dans les études d'analyse de la locomotion publiées par l'équipe de neurobiologie d'Alfort. Ce système présentait une autonomie de 12 heures environ, ce qui permettait largement de réaliser nos mesures pendant 2h, voire plus.

Ce boîtier a été changé en cours d'expérimentation, suite à un problème technique, ce qui a eu pour seule conséquence de changer les constantes de base reliées au boîtier, ceci a bien été pris en compte dans les analyses ultérieures.

Le boîtier était fixé sur le chien au niveau du sternum à l'aide d'un harnais ajustable. Il était placé dans une petite pochette en tissu elle-même attachée à la partie passant sous le sternum du harnais, pour que le boîtier soit entre le harnais et le sternum. En plus d'être attachée avec un scratch au harnais la pochette était aussi scotchée (Figure 18). Par dessus le harnais on plaçait un gilet. La figure 19 montre Iop entièrement équipé. Le harnais présentait l'avantage de maintenir la position du capteur par rapport au chien, et le gilet permettait d'empêcher que le chien ne détache l'accéléromètre. La ceinture utilisée à l'origine pour l'analyse de marche n'était pas suffisante comme moyen de fixation. En effet, le chien étant laissé libre dans une pièce durant 2 heures celle-ci aurait n'aurait pas été suffisante pour maintenir l'accéléromètre en place. Ceci avait été relevé lors de l'étude préliminaire de MD.

Le même dispositif était utilisé pour les expériences de MD et IB.

Figure 18 : Dispositif de fixation de l'accéléromètre au harnais



Vue de l'avant

Vue de l'arrière

(source personnelle).

Figure 19 : Exemple de Iop (chien GRMD avec l'équipement)



1 : Gilet

*2 : Accéléromètre placé dans la pochette en tissus, attachée au harnais, puis entourée de scotch
(source personnelle).*

La caméra utilisée pour réaliser les prises de vue était une caméra Go Pro Hero 3 Black édition ®, munie d'une carte SD de 64 Go et d'un bras articulé, avec ventouse, permettant de l'accrocher au hublot de la salle (figure 20). L'utilisation de deux batteries était nécessaire pour la réalisation des deux séances d'enregistrement au cours d'un après-midi, en effet une batterie ne permettait de réaliser que 75 minutes de film, et les batteries nécessitant 2 heures de chargement, il était impossible de les recharger entre deux chiens.

Figure 20 : Positionnement de la caméra



*Vue de l'extérieur de la salle Vue de l'intérieur de la salle
(source personnelle).*

Lors des tests réalisés par MD et IB aucune analyse vidéo n'a été réalisée.

II Méthode

1) Déroulement d'une séquence de mesure

a) Évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD

Dans l'optique de déterminer la répétabilité de nos mesures, elles ont été réalisées 5 fois sur 5 jours consécutifs, l'ensemble de ces tests représentant une séquence de prises de mesures. Ces prises de mesures avaient toujours lieu dans l'après-midi. Une séquence de prises de mesures commençait toujours le Lundi.

Chaque séquence regroupait 2 chiens : 1 sain et 1 GRMD appariés (sauf pour le couple G'oulu/Fakir, le nombre de chiens sains présents sur le site étant bien inférieur au nombre de chiens GRMD). Ils passaient successivement sur des créneaux de deux heures de 14h à 16h et de 16h15 à 18h15 environ. D'un jour sur l'autre on échangeait le premier à passer. Un planning détaillé de l'occupation de la salle est explicité dans le tableau 4.

Avant chaque séquence de prise de mesure, les chiens étaient placés 3 fois 10 minutes dans la salle avec l'équipement. Ceci avait pour but de les habituer au nouvel environnement ainsi qu'au port de l'équipement. Cette habitude était réalisée le Vendredi matin, le Vendredi après-midi et le Lundi matin précédant la séquence de prises de mesures.

Chaque jour durant une séquence, le chien (du binôme étudié) était amené dans la pièce par la porte du sas. Une fois le chien dans la pièce, on lui passait le harnais, déclenchait l'accéléromètre en relevant l'heure, puis on le faisait rester debout immobile 5 secondes, lorsque cela était possible pour avoir la ligne de base. Ensuite on passait le gilet, puis l'opérateur sortait par la porte du sas, enfermait le chien dans la pièce et déclenchait la caméra, en relevant l'heure. Puis l'opérateur partait en empruntant le même chemin qu'à l'aller.

Le chien restait en tout 2 heures dans la pièce, seul, puis l'opérateur venait le chercher en arrivant

par la porte du sas et en le ramenant par la porte du couloir. Le plan de la figure 21 détaille les différents chemins empruntés.

Il a fallu modifier cela pour le dernier binôme Iop/Ioda, car le sas était alors utilisé comme pièce d'hébergement pour des chats en expérimentation. Afin d'éviter tout contact interspécifique, Iop et Ioda sont donc rentrés et sortis de la salle par le même chemin : celui utilisé pour la sortie des autres chiens. Mais l'opérateur sortait toujours par la porte du sas, au moment de laisser le chien dans la pièce pour les deux heures de mesures.

La prise de mesure se déroulait sur 2 heures pour l'accélérométrie et environ 75 minutes pour la caméra (l'autonomie de la batterie n'excédant que rarement cette durée).

Tableau 4 : Résumé du planning du protocole

Jours	Habituation		Séquence de mesure (Lundi fin de l'habituation, vendredi habituation couple suivant)				
	Vendredi	Weekend	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi
10h	10 minutes		10 minutes				10 minutes
10h20	10 minutes		10 minutes				10 minutes
14h-16h							
16h15-18h 15							
19h ou 17h	10 minutes						10 minutes
19h20 ou 17h20	10 minutes						10 minutes

	Chien sain 1		Chien sain 2
	Chien GRMD 1		Chien GRMD 2

b) Comparaison de deux conditions d'expérimentation : effet de l'espace alloué

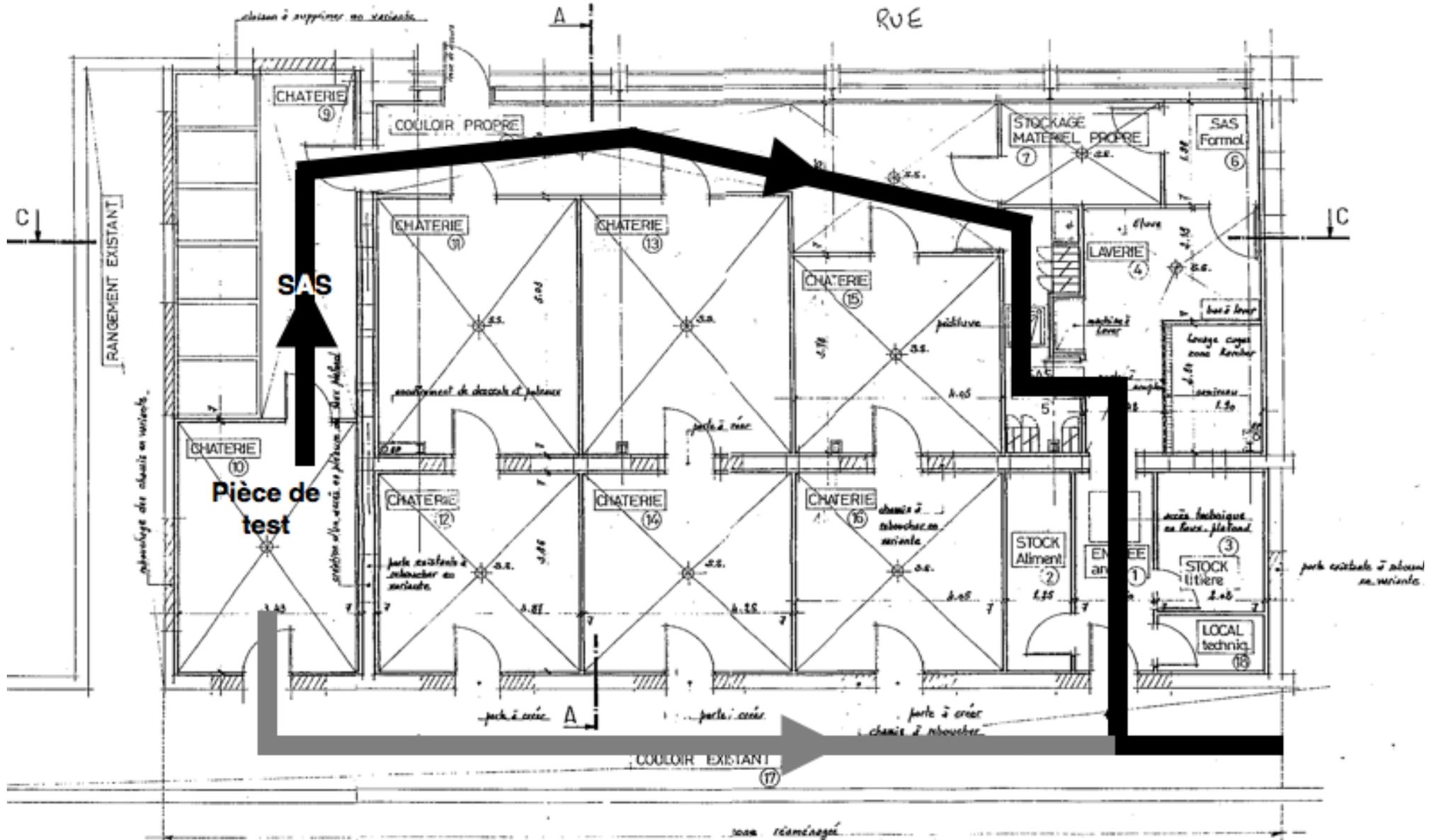
Les mesures d'accélérométrie utilisées étaient celles des mêmes plages horaires que celles pour l'évaluation d'outils d'actimétrie pour l'évaluation du chien GRMD, elles étaient réalisées sur 1h40, à partir des 10 minutes suivant le lancement de l'accéléromètre. Le chien était placé dans la cage aux environs de midi et y restait jusqu'au lendemain. Étant donné qu'un seul accéléromètre

était disponible, un seul chien était suivi par jour. De plus, afin de vérifier la reproductibilité de ces mesures, chaque chien était soumis à trois journées de mesures réparties sur une semaine. Afin de ne pas exciter le chien pendant les phases d'enregistrement, l'accès par le personnel à la salle dans laquelle il se trouvait était interdit le temps de l'enregistrement.

c) Suivi longitudinal de l'activité des chiens

Pour l'étude longitudinale, chaque chien était amené une fois par mois dans la salle (autour de sa date d'anniversaire), et ce durant 10 mois. Pour arriver et partir de la salle les chiens empruntaient le même chemin que les chiens du protocole de l'étude principale, et étaient équipés de la même manière. Comme pour Iop et Ioda le chemin emprunté pour amener les chiens a dû être changé suite à l'arrivée des chats dans la pièce voisine.

Figure 21 : Plan des locaux, et chemin emprunté avec les chiens



Chemin emprunté pour amener les chiens du chenil et venir les chercher



Chemin emprunté pour ramener les chiens au chenil

2) Actimétrie par accélérométrie

L'analyse des données d'accélérométrie a été réalisée sur 1h40, pour éviter toutes interférences de l'opérateur sur le comportement du chien nous n'avons pas examiné les 10 premières et les 10 dernières minutes d'enregistrement.

Les valeurs d'accélération obtenues étaient affichées en g et présentées sous forme de graphique en fonction du temps sur Equimetrix ®. À partir de ce logiciel nous avons exporté ces données sous Excel ®. Les 2 heures d'enregistrements ont été exportés sous forme de valeurs d'accélération cranio-caudale, antéro-postérieur et médio-latérale, par plage de 20 minutes. L'exportation était longue car en raison d'un bug de logiciel, il fallait redémarrer Equimétrie ® après chaque importation d'une plage de 20 minutes.

Il a ensuite fallu échantillonner ces données pour obtenir une fréquence de 10 Hz, celle de base d'acquisition de cet accéléromètre (adaptée à de l'analyse de marche) étant beaucoup trop importante pour une étude d'activité : 100Hz.

Les données des plages de 20 minutes filtrées à 10 Hz étaient ensuite regroupées dans un fichier Excel ® pour obtenir le fichier de base de travail de la séance de mesure.

Nous avons ensuite, à l'aide d'une feuille Excel ®, calculé la somme des différences des accélérations sur les trois axes, en utilisant la formule suivante :

$$\sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2 + (z_2 - z_1)^2}$$

(x_1, y_1, z_1) : $x_1 \Rightarrow$ valeur de l'accélération suivant l'axe dorso-ventral à t1

$y_1 \Rightarrow$ valeur de l'accélération suivant l'axe antéro-postérieur à t1

$z_1 \Rightarrow$ valeur de l'accélération suivant l'axe médio-latéral à t1

(x_2, y_2, z_2) : $x_2 \Rightarrow$ valeur de l'accélération suivant l'axe dorso-ventral à t2 ($t_2 = t_1 + 0,1s$)

$y_2 \Rightarrow$ valeur de l'accélération suivant l'axe antéro-postérieur à t2 ($t_2 = t_1 + 0,1s$)

$z_2 \Rightarrow$ valeur de l'accélération suivant l'axe médio-latéral à t2 ($t_2 = t_1 + 0,1s$)

Et obtenu l'activité globale sur 1h40 en sommant ces différences.

Les données accélérométriques obtenues par MD et IB ont été traitées de la même manière.

3) Analyse vidéo par « scans » : une méthode d'actimétrie alternative ?

Aux mesures accélérométriques, nous avons synchronisé sur les mêmes séances des enregistrements vidéo. Ces enregistrements devaient nous permettre de vérifier s'il existait une adéquation entre les mesures d'activité obtenues via l'accélérométrie et l'activité mesurée via la réalisation de « scans » vidéo, proposée ici comme une méthode alternative à l'accélérométrie. Le « scan » vidéo consistant à regarder à des moments précis de la vidéo (ici toutes les 5 minutes) le comportement réalisé par le chien, ceci permet de réaliser un échantillonnage des comportements au lieu de noter chaque comportement au fur et à mesure de la vidéo.

Les films tournés à l'aide de la GoPro ® ont été utilisés pour lister les différents comportements réalisés par les chiens, toutes les 5 minutes, sur des séquences de 75 minutes. Chaque séquence nous a permis de réaliser 15 « scans », un toutes les 5 minutes, le premier « scan »

étant pris 10 minutes après le début du film. À chaque « scan » nous avons observé le comportement du chien, par exemple la figure 22 est une capture d'écran qui montre Hello lors d'un « scan » où il est debout et immobile.

Le listing des comportement et des positions rencontrés au cours des différents « scans » est présent dans le tableau 5.

Figure 22 : Exemple d'un des « scans » réalisés



Hello est debout et immobile (source personnelle).

Tableau 5 : Tableau du listing des comportements et des positions rencontrés lors des « scans », exemple de la semaine d'Haribo

	Lundi	Mardi	mercredi	jeudi	vendredi
Debout (immobile)	3	2	2	3	3
Assis	0	0	0	0	0
Couché (en sphinx)	0	0	0	0	0
Couché (entre les 2)	0	0	0	0	0
Couché (sur le côté)	0	0	0	0	0
Couché (en boule)	0	0	0	0	0
Couché en grenouille	0	0	0	0	0
Saute	0	0	0	0	0
Saute sur un mur	0	0	0	1	0
Retire ses 2 pattes du mur pour descendre	0	0	0	0	0
Se déplace avec les 2 pattes sur le mur	0	0	0	0	0
S'assoit	0	0	0	0	0
Se lève	0	0	0	0	0
Se couche	0	0	0	0	0
Passe de couché en lateral a couché entre les 2	0	0	0	0	0
S'ébroue	0	0	0	1	0
Tourne sur place	0	0	1	0	0
Marche	3	2	1	0	0
Trottine	9	10	10	10	10
Bouge la tête	0	0	0	0	0
Halète	0	0	0	2	2
Aboie	0	0	0	0	0
Joue	0	0	0	0	0
Urine	0	0	1	0	0
Boie	0	0	0	0	0
Se lèche	0	0	0	0	0
Attaque le (joint du) bas de la porte	0	0	0	0	0
Attaque le gilet et le harnais	0	0	0	0	0
Fait le beau	0	0	0	0	0
Joue avec sa queue	0	1	0	0	0
Pres de la porte	3	4	3	2	2
Pres de la porte du couloir	0	0	0	1	1
Pres des jeux	0	0	1	0	0
Pres de la gamelle d'eau	0	0	0	1	0
Pres du panier	0	0	0	0	0
Dans le panier	0	2	0	0	1
Vers la porte	6	2	2	5	0
Vers la porte du couloir	1	2	4	1	1
Vers la gamelle d'eau	2	4	3		5
Vers le panier	2		1	3	2
Vers les jeux	1	1	1	2	1
Hors du champs					
Pas de données problème caméra					2
					coupure de courant pour les 2 derniers scans
Nombre de scans	15	15	15	15	15
	15	15	15	15	15

Nous avons ensuite réuni ces différentes possibilités de « scan » en 3 catégories : actif, non actif et autre. La catégorie actif comprenait les comportements suivants : saute, se déplace, joue, s'ébroue et gratte, la catégorie non actif : assis et couché (qui regroupe toutes les différentes positions possibles listées pour couché), et enfin la catégorie autre qui comprend : se couche, s'assoit, se lève, change de position couché, boit, se lèche, urine, halète et bouge la tête. Ceci nous a permis pour chaque chien, et pour chaque séance, d'obtenir le nombre de fois sur 15 « scans » où il a produit un comportement actif. L'exemple de la semaine d'Haribo est présent en tableau 6. Le but était par la suite de réaliser un test statistique nous permettant de vérifier s'il y avait bien une corrélation entre le nombre de « scans » actifs obtenus et la valeur d'accélérométrie globale obtenue par l'accéléromètre au cours des 1h40 de mesure.

Tableau 6 : Exemple des différents comportements classés en actif, non actif et autre pour la semaine de mesure d'Haribo

	Lundi	Mardi	mercredi	jeudi	vendredi
Saute	0	1	0	1	0
Se déplace	12	12	12	10	10
Joue	0	0	0	0	0
S'ébroue	0	0	0	1	0
Gratte	0	0	0	0	0
somme actif	12	13	12	12	10
Se couche, s'assoit, se lève, change de position couché	0	0	0	0	0
Debout immobile	3	2	2	3	3
Boit, se lèche, urine	0	0	1	0	0
Halète	0	0	0	2	2
Bouge la tête	0	0	0	0	0
somme autre	3	2	3	3	3
Assis	0	0	0	0	0
Couché	0	0	0	0	0
somme inactif	0	0	0	0	0
Problème caméra	0	0	0	0	2
	15	15	15	15	15
	15	15	15	15	15

Au total, nous avons réalisé 75 « scans » par chien, sur 8h20, sur 9 chiens, 30 « scans » par chien, sur 3h20 pour Hipo et le premier passage d'Haribo. Soit en tout, 735 « scans » sur 81h40.

4) Création d'abaques pour chaque comportement

Afin d'affiner les méthodes proposées d'une part, et de proposer une troisième méthode potentielle d'actimétrie d'autre part, nous avons voulu évaluer la possibilité de créer une base de données accélérométriques regroupant les valeurs d'activité en g sur 1 seconde correspondant à différents comportements, en fonction du statut du chien, ceci uniquement sur l'étude chiens sains / chiens GRMD et non sur le suivi longitudinal :

- pour les GRMD : couché (la tête posée), assis, couché (en sternal avec la tête levée sans haleter), haleter, marcher, trotter, jouer, s'ébrouer,
- pour les chiens sains : couché (la tête posée), assis, sauter, marcher, trotter, jouer, s'ébrouer, gratter, attaquer le gilet.

À partir de cet abaque et des « scans » vidéo réalisés, nous avons calculé une activité en g dite « estimée », proposée à son tour comme une méthode d'actimétrie.

Pour cela nous avons utilisé à la fois la vidéo et l'accélérométrie. Toutes les vidéos de tous les chiens ont été regardées en totalité en accéléré, ceci afin de repérer les comportements intéressants tel que : couché avec la tête posée sur le sol (aussi bien en sternal qu'en latéral), assis, couché en sternal avec la tête relevée sans haleter, saute, marche, trotte, joue, halète et s'ébroue. Sur toutes les vidéos, tous les comportements intéressants ont été listés, le moment de leur réalisation sur la vidéo et la durée pendant laquelle ils étaient réalisés répertoriés.

Pour sélectionner la meilleure période de réalisation d'un comportement pour un chien donné, nous prenons sur la vidéo, à partir de la liste réalisée, le moment où le chien réalisait ce comportement durant la plus grande durée.

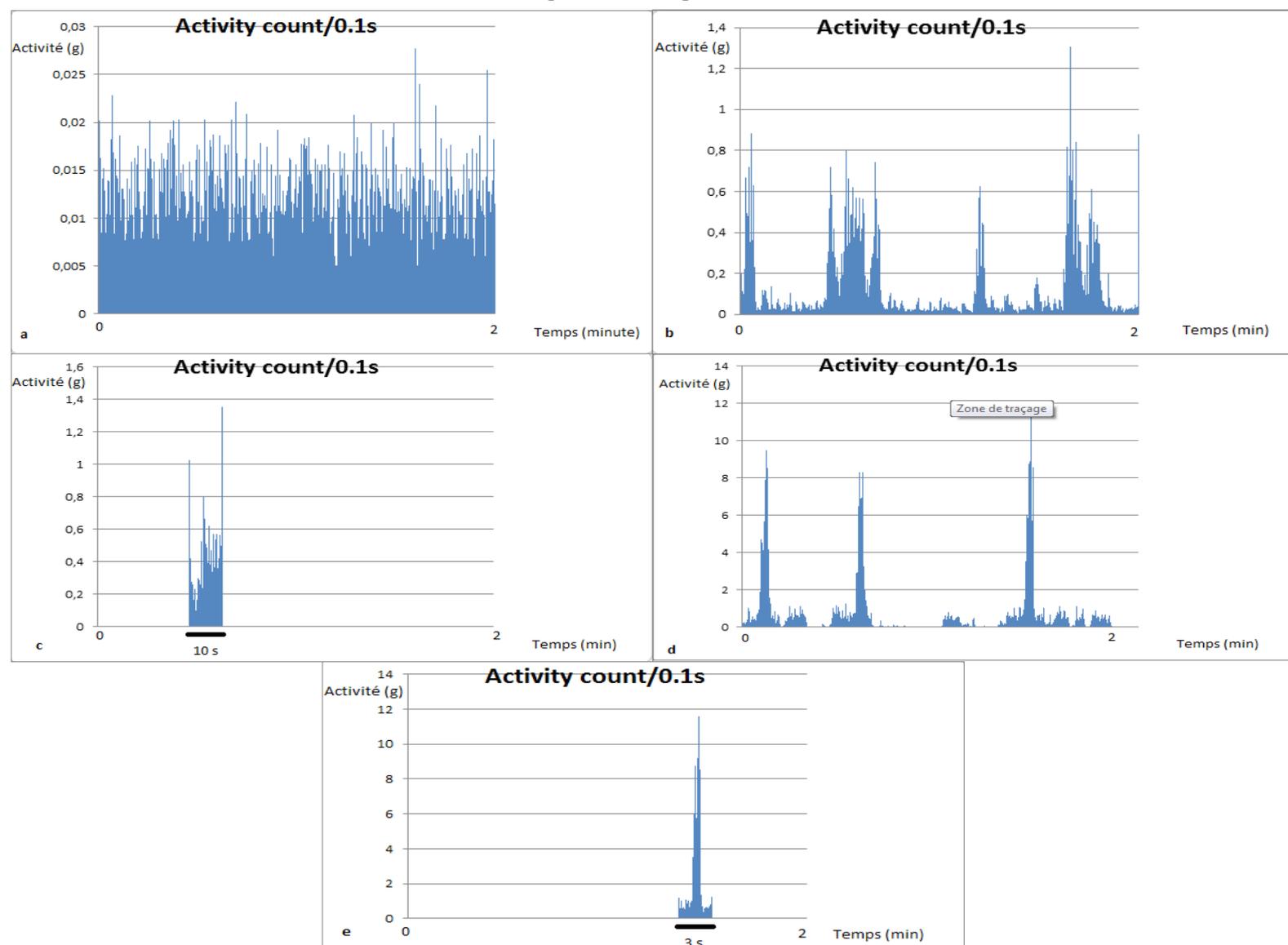
Puis nous retrouvons ce même comportement, avec la même durée, mais cette fois sur les données accélérométriques synchronisées.

Pour que ceci soit possible, nous utilisons le décalage entre l'accélérométrie et la vidéo donné par le relevé de l'heure au moment du lancement de l'accéléromètre et de la caméra. Pour plus de précisions, dès que cela était possible, nous repérons le comportement « s'ébroue » sur la vidéo et le retrouvons de manière précise sur le tracé graphique obtenu lors de l'analyse des données accélérométriques. En effet lorsqu'un chien s'ébroue cela provoque un tracé bien spécifique de forte amplitude et qui est donc facilement repérable. Cette technique nous permettait d'obtenir la durée de décalage précise entre l'accélérométrie et la vidéo. Seul Hipo et Guignol ne s'étaient pas ébroués sur la période commune à la vidéo et l'accélérométrie.

Au départ, nous avons pris un intervalle de 2 minutes autour du moment central du comportement, sur les données accélérométriques. Puis, grâce à la représentation graphique de nos données accélérométriques (exemple en figure 23), nous avons pu préciser et prendre en compte un intervalle de 10 secondes où l'animal ne réalisait précisément que ce comportement. C'était le cas pour couché avec la tête posée, assis, couché en sternal sans haleter, halète, marche, trotte et joue. Pour s'ébroue et saute nous avons même pu préciser et ne prendre en compte qu'un intervalle de quelques secondes de ces comportements (entre 2 et 4).

Pour chaque chien, nous avons dès qu'il était possible obtenu 3 valeurs accélérométriques prises à des moments différents pour un même comportement. Puis nous avons effectué la moyenne des valeurs accélérométriques obtenues pour chaque comportement d'une part pour les chiens sains et d'autre part pour les chiens GRMD. Nous avons ensuite ramené ces valeurs à 1 seconde, ce qui nous a permis d'obtenir les valeurs accélérométriques pour chaque comportement étudié rapportées à 1 seconde.

Figure 23 : Représentation graphique des données d'accélérométrie ayant permis de réaliser les abaques des comportements



- (a)** Graphique représentant l'activité mesurée grâce à l'accéléromètre en g sur 2 minutes lorsque Fakir est couché avec la tête posée sur le sol de manière continue, 10 secondes au sein de ces 2 minutes ont été utilisées pour l'abaque, la valeur d'activité en g obtenue sur ces 10 secondes a ensuite été divisée par 10 pour obtenir une valeur de l'activité couchée la tête posée sur le sol sur une seconde pour Fakir, ceci a été réalisé 3 fois sur 3 moments différents de la vidéo
- (b)** Graphique représentant l'activité mesurée grâce à l'accéléromètre en g sur 2 minutes lorsque FBI marche, les épisodes de marche sont représentés par les pics en g, 10 secondes au sein de ces moments de marche ont été choisies pour réaliser l'abaque, c'est ces 10 secondes qui sont représentées en (c), la valeur d'activité en g obtenue sur ces 10 secondes a ensuite été divisée par 10 pour obtenir une valeur de l'activité marche sur une seconde pour FBI, ceci a été réalisé 3 fois sur 3 moments différents de la vidéo
- (d)** Graphique représentant l'activité mesurée grâce à l'accéléromètre en g sur 2 minutes lorsque Fébrèze s'ébroue, les épisodes où il s'ébroue sont représentés par les pics en g, 3 secondes (durée de l'ébrouement de Fébrèze) au sein de ces 2 minutes ont été sélectionnées pour réaliser l'abaque, c'est ces 3 secondes qui sont représentées en (e), la valeur d'activité en g obtenue sur ces 3 secondes a ensuite été divisée par 3 pour obtenir une valeur de l'activité s'ébroue sur une seconde pour Fébrèze, ceci a été réalisé 3 fois sur 3 moments différents de la vidéo

À l'aide de ces valeurs et des relevés des comportements des « scans », nous avons calculé une nouvelle valeur accélérométrique globale estimée sur 1h40 en g. Pour cela, nous avons multiplié la valeur accélérométrique, sur 1 seconde, obtenue pour chaque comportement par le nombre de fois où ce comportement était réalisé, ce qui nous a donné une valeur sur 15 secondes. Nous avons ensuite multiplié cette valeur sur 15 secondes par 400 pour obtenir la valeur estimée sur 1h40.

Par exemple, pour Haribo ce calcul a été réalisé sur le Lundi, à l'aide du tableau 4 qui nous donne les comportements relevés à chaque « scan », Haribo ne s'étant déplacé qu'en trotinant, et du tableau 5 des abaqués (présent dans la partie III) 2) b)), nous avons obtenu sur 15 secondes le score suivant :

Valeur accélérométrique estimées 15s = (nombre de scans où haribo saute X valeur de l'abaque saute chien sain) + (nb scans H trotte X valeur de l'abaque trotte) + (nb scans H s'ébroue X valeur de l'abaque s'ébroue) + (nb scans H est couché X valeur de l'abaque couché) + (nb scans H gratte X valeur de l'abaque gratte) + (nb scans H joue X valeur de l'abaque joue) + (nb scans H attaque le gilet X valeur de l'abaque attaque le gilet)

Soit :

$$\text{Valeur accélérométrique estimée 15s} = 0 \times 10,6 + 12 \times 9,5 + 0 \times 44,2 + 0 \times 0,3 + 0 \times 7,9 + 0 \times 3,2 + 0 \times 10,7$$

Ce qui nous a donné 114,4 g pour la valeur accélérométrique estimée sur 15 secondes. Pour obtenir la valeur sur 1h40 il ne restait plus qu'à multiplier par 400. Ce qui nous a donné la valeur accélérométrique estimée sur 1h40 : 45758,8 g.

Le but était par la suite de réaliser un test statistique nous permettant de vérifier s'il y avait bien une concordance entre cette valeur accélérométrique estimée et la valeur d'accélérométrie globale obtenue par l'accéléromètre au cours des 1h40 de mesure.

5) Tests statistiques

a) *Accélérométrie*

i) Différence d'activité GRMD vs Sains

Nous avons voulu vérifier si sur les 5 jours de mesures accélérométriques, il était possible de mettre en évidence une différence d'activité entre le groupe des chiens sains et celui des GRMD. Pour cela nous avons utilisé l'ANOVA (Analysis Of Variance) sur mesures répétées, à l'aide du logiciel Statistica 10 ®, avec un effet inter (GRMD vs Sains) et un effet intra (jour de test). Pour ce test nous n'avons pas pris en compte les deux jours de passage d'Haribo lorsqu'il était en binôme avec Hipo, mais les 5 jours en binôme avec Guizmo. Les résultats étaient considérés comme significatifs si $p < 0,05$.

ii) Répétabilité des mesures

Pour vérifier la répétabilité de nos mesures d'un jour sur l'autre, et vérifier par là même si les résultats différaient en fonction des jours, nous avons, d'une part, étudié les coefficients de variation sur les 5 jours pour chaque chien. D'autre part, nous avons également réalisé un test ANOVA sur mesures répétées, à l'aide du logiciel Statistica 10 ®, sur tous les chiens regroupés, puis sur le groupe des chiens sains et celui des GRMD séparés et étudié l'effet « jour de test ». Dans le cadre de ce test nous n'avons pas pu utiliser les données issues des 2 jours d'Haribo, ni d'Hipo lors de leur passage en binôme. Les résultats étaient considérés comme significatifs si $p < 0,05$.

iii) Influence de la taille de la cage

Dans le but de vérifier si la taille de la cage avait un impact sur les valeurs obtenues pour l'activité globale des chiens, nous avons utilisé une ANOVA sur mesures répétées, à l'aide du logiciel Statistica 10 ® afin de comparer les données obtenues par MD dans la cage, à celles obtenues ici dans la pièce de 16,43 m², sur les mêmes chiens. Les valeurs moyennées ont été utilisées, et l'effet de l'espace disponible sur le niveau d'activité étudié (effet intra, tenant compte de la non-indépendance des données). Les résultats étaient considérés comme significatifs si $p < 0,05$.

iv) Suivi des animaux au cours de leur premiers mois de vie

Pour le suivi longitudinal, nous n'avons pas réalisé d'analyse statistique poussée, mais une analyse qualitative, ainsi que des graphiques (à l'aide du logiciel Numbers ®) qui présentent l'évolution des chiens les uns par rapport aux autres.

b) Comparaison accélérométrie et « scans » vidéo

Les tests suivants ont été réalisés sur un jour de mesure uniquement, en effet si cette méthode venait à être appliquée en routine elle le serait sur une séance de mesure et non pas sur 5. Nous avons choisi le premier jour, pour un couple de chien, où aucun problème d'enregistrement avec la caméra n'était survenu pour ces deux chiens. Nous avons donc choisi le Lundi pour Haribo/Hipo, Fébrèze/FBI, Haribo/Guizmo et Ioda/Iop, le Mardi pour Fakir/G'oulu et le Vendredi pour Hello/Guignol.

Nous avons dans un premier temps voulu vérifier qu'il existait bien une corrélation entre la valeur de l'activité globale mesurée grâce à l'accéléromètre sur 1h40 et le nombre de « scans » actifs sur les 15 « scans » réalisés sur 75 minutes. Pour cela, nous avons utilisé le coefficient de corrélation de Spearman, (calculé grâce au logiciel Excel ®) test non paramétrique qui consiste à quantifier la corrélation sur les rangs de mesures entre les deux séries de mesures. Les résultats étaient considérés comme significatifs si $p < 0,05$.

Puis nous avons testé, à l'aide d'Excel ® la concordance entre la valeur d'activité mesurée par accélérométrie et la valeur estimée à partir de l'abaque constitué, les deux étant exprimés en g. Nous avons calculé le coefficient de concordance de Lin et réalisé les graphiques de Bland et

Altman ainsi que la droite à 45°. Pour le graphique de Bland et Altman, nous avons considéré que nos deux méthodes donnaient des valeurs concordantes si (1) l'une ne sur-estimait ou ne sous-estimait pas l'autre méthode de plus de 1000 g, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre méthode était inférieure à 1000 g (en valeur absolue) (Desquilbet, 2015).

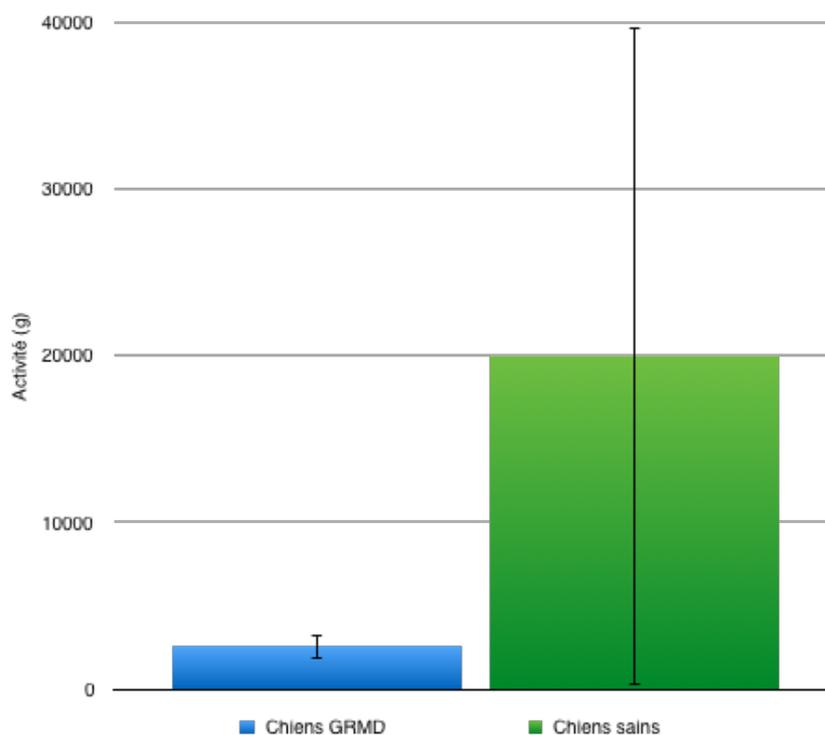
III Résultats

1) Accélérométrie

a) Différence d'activité GRMD vs Sains

L'ANOVA mesures répétées pour la mise en évidence d'une différence entre le groupe des chiens sains et celui des chiens GRMD, démontrait une différence significative d'activité entre ces deux groupes $p = 0,041$, les chiens GRMD étant moins actifs que les chiens sains. Cependant, lorsqu'on regarde la figure 24, on remarque que les intervalles de confiance à 95 % se recoupent en partie. En effet, l'intervalle de confiance à 95 % des chiens GRMD ([1850 ; 3269]) est compris dans celui des chiens sains ([200 ; 39672]).

Figure 24 : Histogramme des moyennes des activités mesurées par accélérométrie, des groupes sains et GRMD associé à leurs intervalles de confiance



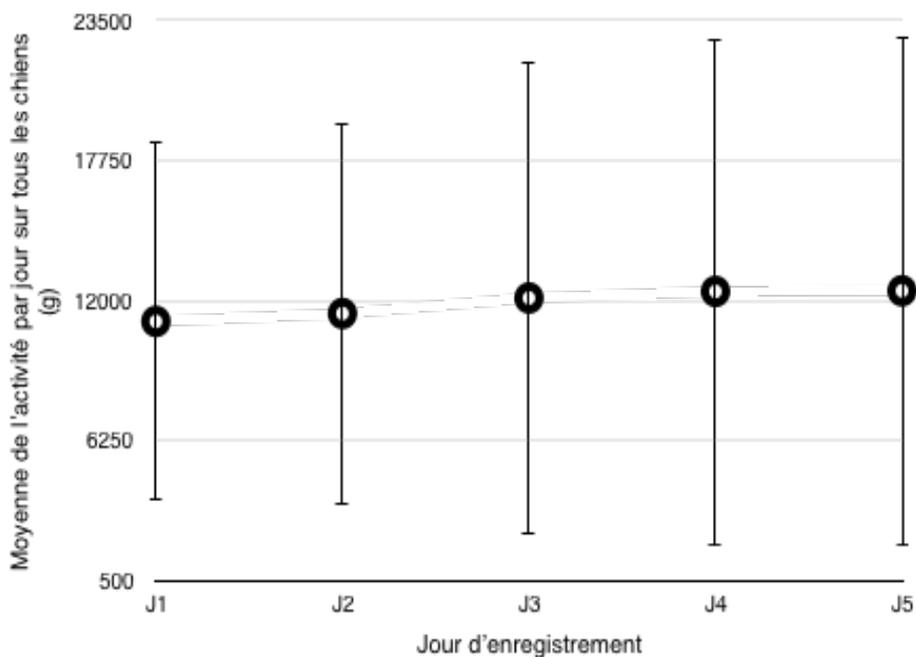
Moyenne de l'activité mesurée par accélérométrie pour les 5 jours du groupe des chiens sains et de celui des GRMD.

b) Répétabilité des mesures

La moyenne des coefficients de variation pour les chiens sains était de 28 % avec comme maximum 40 % pour Fébrèze, et de 38 % pour les GRMD avec comme maximum 75% pour FBI. Ces coefficients se sont donc avérés élevés en particulier pour les chiens GRMD. La répétabilité en fonction des jours semblait donc plutôt faible.

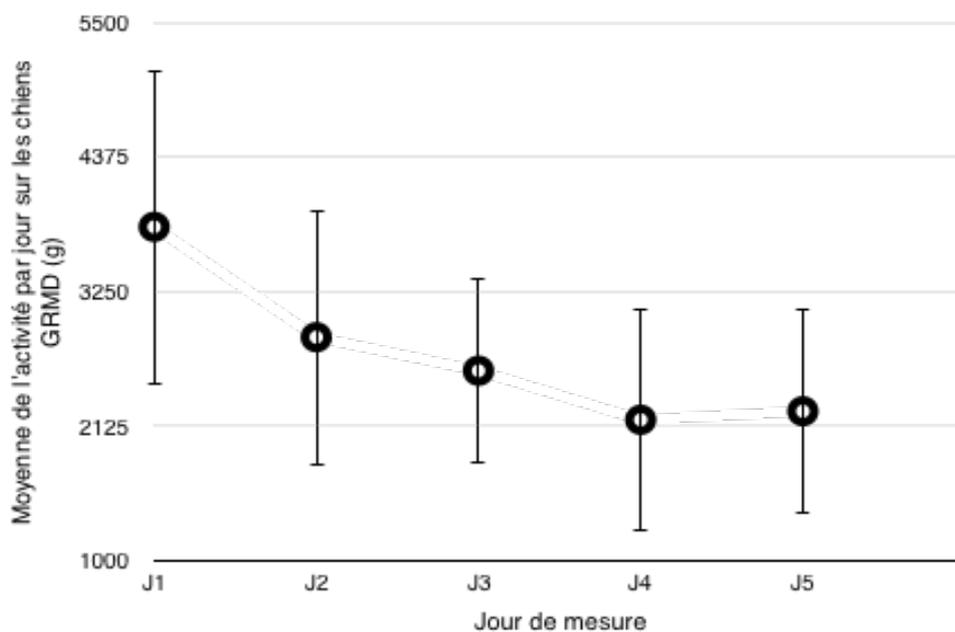
Cependant, l'ANOVA sur mesures répétées sur tous les chiens ne permettait pas de détecter d'effet jour significatif ($p = 0,34$). Si l'on regarde le graphique de la figure 25, on remarque que les intervalles de confiance des différents jours se chevauchaient, et étaient semblables. En revanche, lorsque l'on distinguait les deux groupes (chiens sains et chiens GRMD), l'ANOVA sur mesures répétées ne permettait pas de détecter d'effet jour significatif pour ce qui est des chiens sains ($p = 0,31$). Mais pour le groupe des chiens GRMD, ce même effet jour avoisinait le seuil de significativité ($p = 0,056$), avec une tendance à la diminution de l'activité au cours des cinq jours de test. Il existait toutefois toujours un recouvrement des intervalles de confiances (figure 26).

Figure 25 : Moyenne et intervalle de confiance de l'activité sur 1h40 jour par jour pour tous les chiens



Moyenne de l'activité mesurée par accélérométrie chaque jour pour tous les chiens.

Figure 26 : Moyenne et intervalle de confiance de l'activité sur 1h40 jour par jour pour le groupe des chiens GRMD

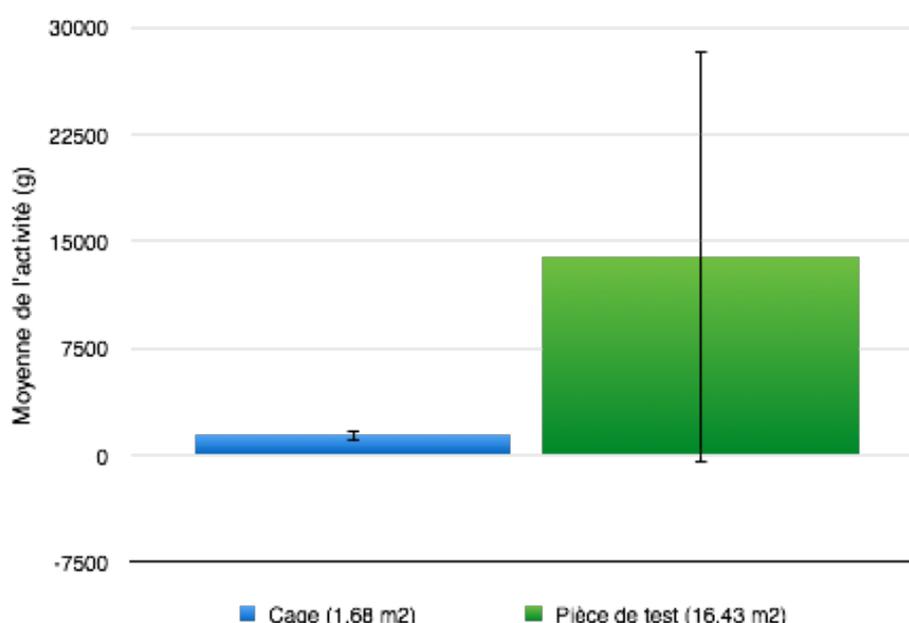


Moyenne de l'activité mesurée par accélérométrie chaque jour pour les chiens GRMD.

c) Influence de la taille de la cage

L'ANOVA sur mesures répétées visant à comparer les données obtenues dans deux espaces de superficie différentes sur les mêmes chiens (étude de MD *versus* étude principale) a permis de mettre en évidence un effet très significatif du changement d'environnement ($p = 0,0043$). Les niveaux d'activité étaient plus importants dans un plus grand espace (pièce de test > cage) : moyenne activité cage = 1 393 g, moyenne activité pièce = 13 916 g. Ceci est également confirmé lorsqu'on ne s'intéressait qu'aux chiens GRMD, ($p = 0,04$). Cette différence forte est confirmée également par le graphique de la figure 27.

Figure 27 : Moyenne et intervalle de confiance à 95 % de l'activité mesurée par accélérométrie sur 1h40 des chiens testés dans leur cage versus dans la pièce de test

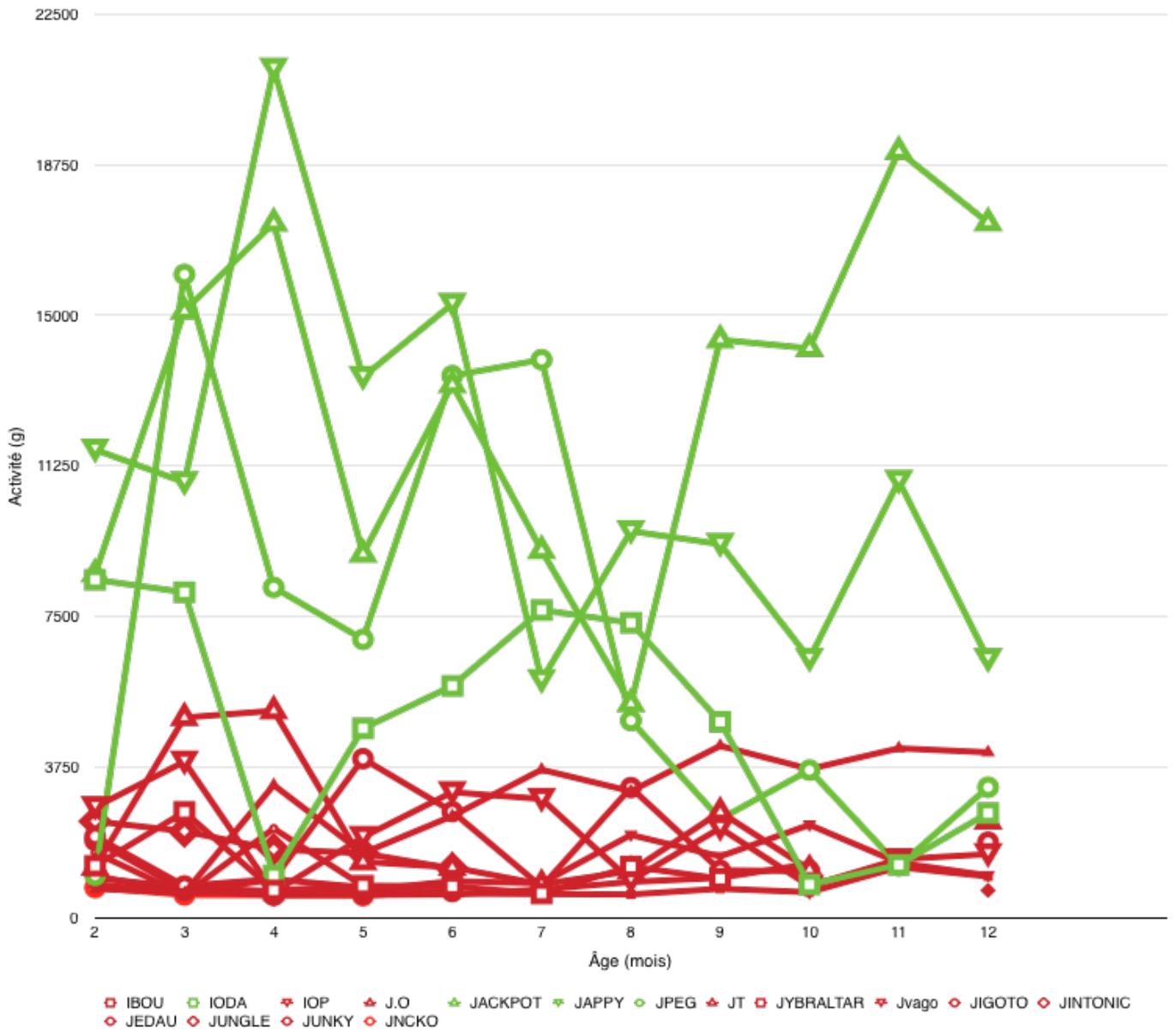


Moyenne de l'activité mesurée par accélérométrie chaque jour pour tous les chiens.

d) Suivi des animaux au cours de leurs premiers mois de vie

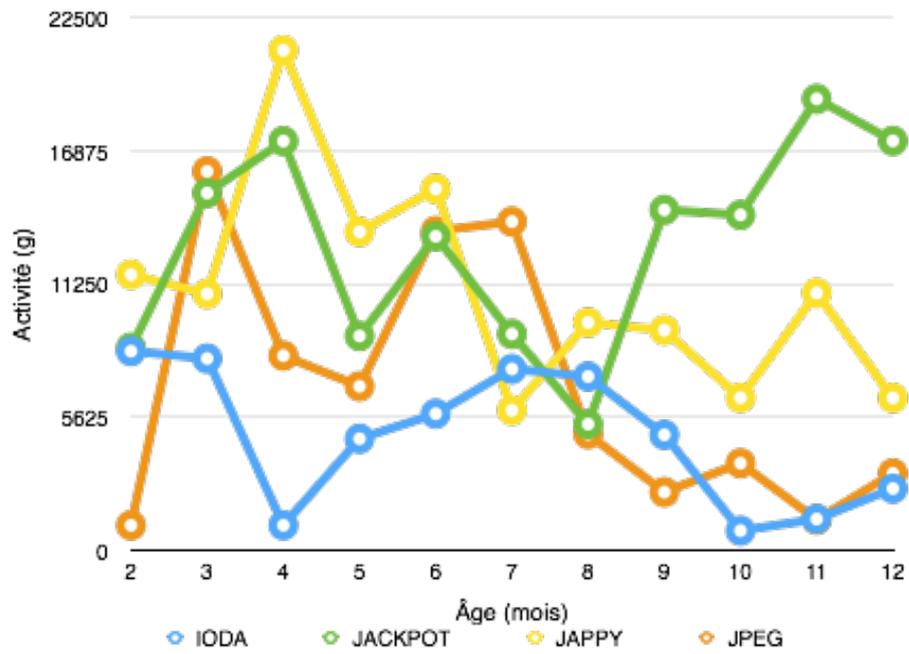
Les figures 28 à 30, représentant les valeurs accélérométriques obtenues au cours de l'étude longitudinale sur dix mois, regroupant des chiens sains et des chiens GRMD présentant différentes atteintes cliniques, orientent vers l'existence d'une différence dès les premiers mois de vie entre les chiens sains et les chiens GRMD. En effet, les chiens GRMD semblaient globalement moins actifs que les chiens sains (figure 28). L'activité des chiens sains semblait présenter des variations aléatoires au cours des dix mois mais restait dans des valeurs hautes (figure 29), alors que les chiens GRMD présentant une atteinte modérée semblaient présenter ces mêmes variations aléatoires mais avec un degré d'activité moindre que les sains (figure 30). Les chiens GRMD présentant une forme accélérée ou une forme intermédiaire semblaient présenter moins de variations de leur activité, et celle-ci semblait plus faible par rapport au chiens sains. De plus elle semblait diminuer au cours des mois

Figure 28 : Évolution du niveau d'activité des 16 chiens sur 10 mois



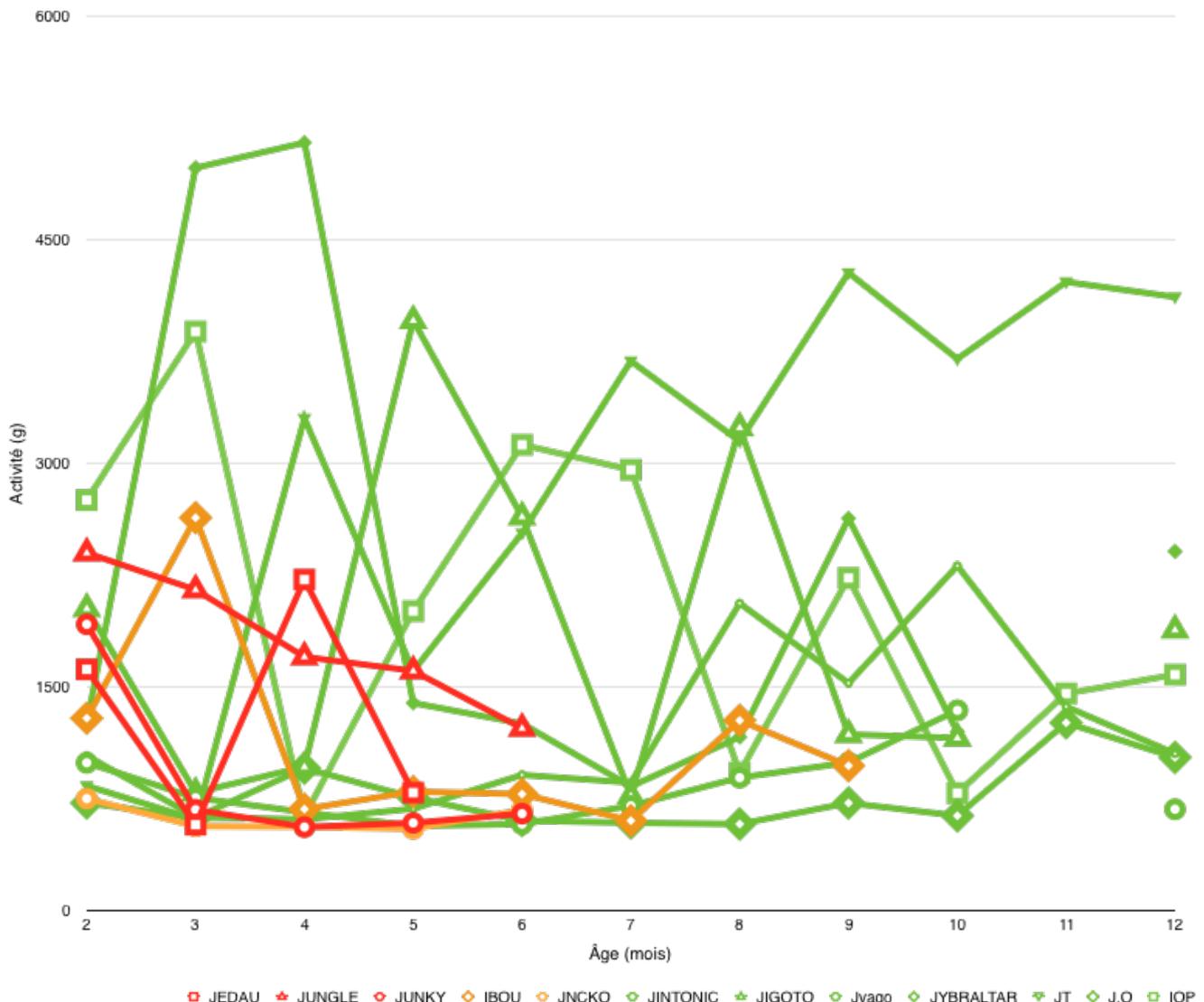
Les chiens sains sont en vert et les GRMD en rouge, on note une activité plus importante des chiens sains par rapport aux chiens GRMD.

Figure 29 : Évolution du niveau d'activité des 4 chiens sains sur 10 mois



L'activité des chiens sains semble présenter des variations aléatoires au cours des mois.

Figure 30 : Évolution du niveau d'activité des 12 chiens GRMD sur 10 mois



Les chiens GRMD avec une forme accélérée associée à une perte de locomotion avant 6 mois sont en rouge, ceux avec une forme intermédiaire associée à une perte ou quasi-perte de locomotion mais plus tardive sont en orange et ceux avec une forme modérée sont en vert.

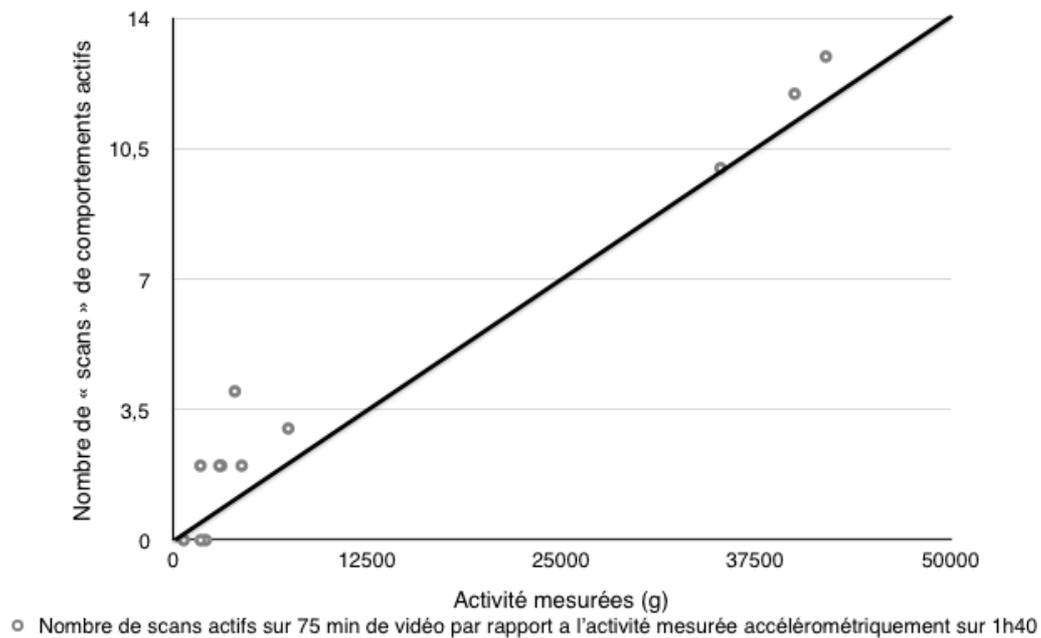
2) Comparaison accélérométrie / vidéo

a) Évaluation de l'analyse par « scans » vidéo comme méthode d'actimétrie

Le coefficient de corrélation de Spearman entre l'activité mesurée via l'accéléromètre, et le nombre de « scans » actifs sur les 15 « scans » réalisés sur la vidéo était de 0,89 ($p < 0,0001$). Ce qui montre qu'il existait une corrélation significative et forte entre l'activité mesurée par l'accéléromètre sur 1h40 et celle obtenue via un relevé de « scans » toutes les 5 minutes sur la vidéo de 75 minutes.

La figure 31, droite à 45°, permet d'illustrer cette bonne corrélation entre les deux méthodes.

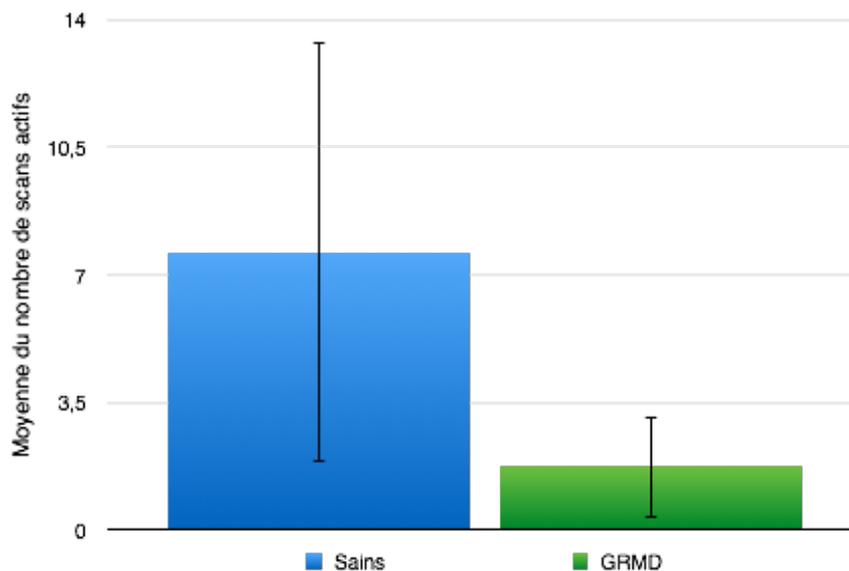
Figure 31 : Droite à 45° entre la méthode de mesure de l'activité via l'accélérométrie et la vidéo permettant d'obtenir le nombre de « scans » actifs sur 15 « scans »



Représentation graphique de l'activité sur 1h40 (en g) mesurées sur 12 séances (une par chien), avec en abscisse la valeur de l'activité mesurée à l'aide de l'accéléromètre. En ordonnée se trouve le nombre de « scans » actifs obtenu sur les 15 « scans » réalisés durant les vidéo de 75 min. La droite à 45° représente la corrélation parfaite avec l'activité obtenue par accélérométrie (source personnelle).

La figure 32, représentant la moyenne du nombre de « scans » actifs chiens sains vs chiens GRMD, montre également une différence entre ces deux groupes, même si les écarts types se chevauchent.

Figure 32 : Moyenne du nombre de « scans » actifs chiens sains vs chiens GRMD



Moyenne du nombre de « scans » actifs pour les chiens sains et les chiens GRMD.

b) Évaluation d'une méthode d'estimation de l'activité à partir d'un abaque de comportements et des « scans » vidéo

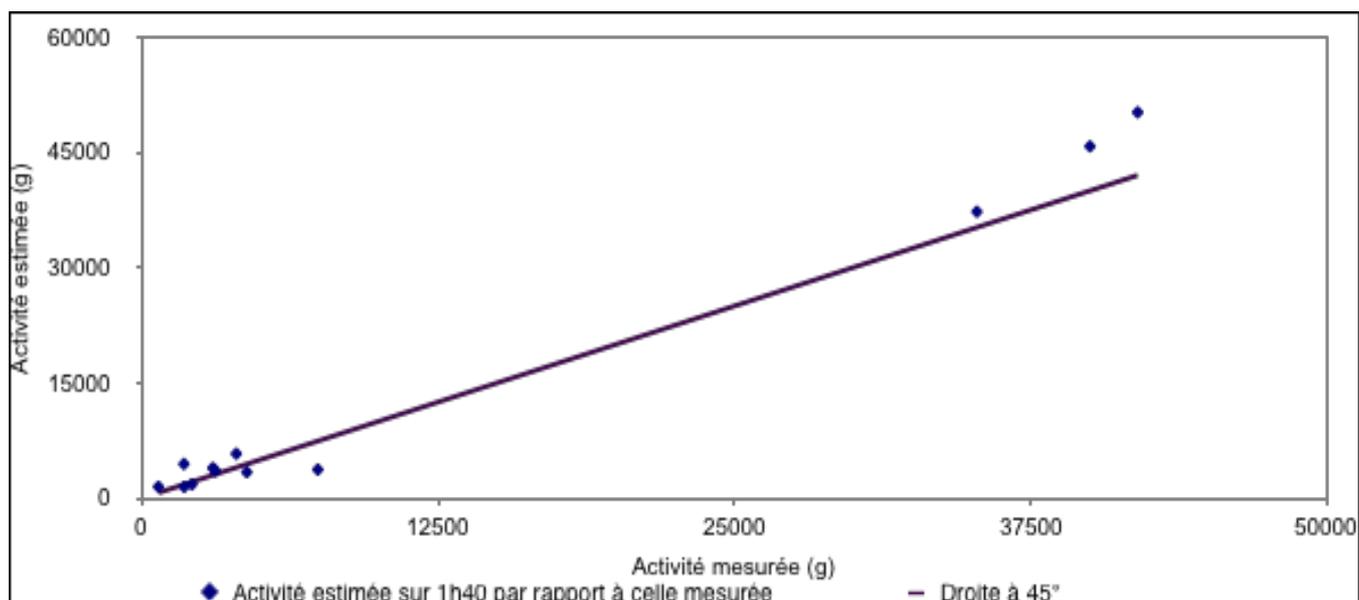
Les valeurs d'abaques (valeurs accélérométriques pour chaque comportement étudié rapportées à une seconde), sont présentes dans le tableau 7.

Tableau 7 : Valeurs accélérométriques obtenues sur une seconde pour chaque comportement recherché

	GRMD			Sain	
	moyenne (en g)	1s (en g)		moyenne (en g)	1s (en g)
Couché tete posée 10s	2,48	0,25	Couché tete posée 10s	2,85	0,28
Assis 10s	8,87	0,89	Assis 10s		
couché stern tete levé halète pas 10s	3,60	0,36			
Halète 10s	4,41	0,44	Saute (bipédie) 1s	10,58	10,58
Marche 10s	29,93	2,99	Halète 10s	7,61	0,76
Trottine 10s			Marche 10s	26,26	2,63
Joue 10s	35,43	3,54	Trottine 10s	95,33	9,53
S'ébroue 1s	29,74	29,74	Gratte 10s	79,18	7,92
			Joue 10s	31,75	3,18
			S'ébroue 1s	44,25	44,25
			Attaque gilet 10s	107,26	10,73

Le coefficient de concordance de Lin obtenu entre l'activité mesurée sur 1h40 et celle estimée sur 1h40, à l'aide des abaques créés et des « scans » vidéo, est de 0,90 avec un Intervalle de Confiance à 95% ($IC_{95\%}$) compris entre 0,88 et 0,92. Cette valeur du coefficient de concordance de Lin est proche de 1 et correspond à une concordance « plutôt bonne », son $IC_{95\%}$ est même situé entre les valeurs « plutôt bonnes » et « très bonnes » de concordance (Lin, 1989). Ceci est cohérent avec ce que montre la figure 33. On y remarque que l'estimation de l'activité sur 1h40 ne semble ni sur-estimer, ni sous-estimer les valeurs de l'activité, et l'erreur (aléatoire) semble faible (excepté pour les 2 dernières valeurs les plus élevées).

Figure 33 : Droite à 45° entre la méthode de mesure de l'activité via l'accélérométrie et celle d'estimation de l'activité via l'abaque mis en place et les « scans » vidéo

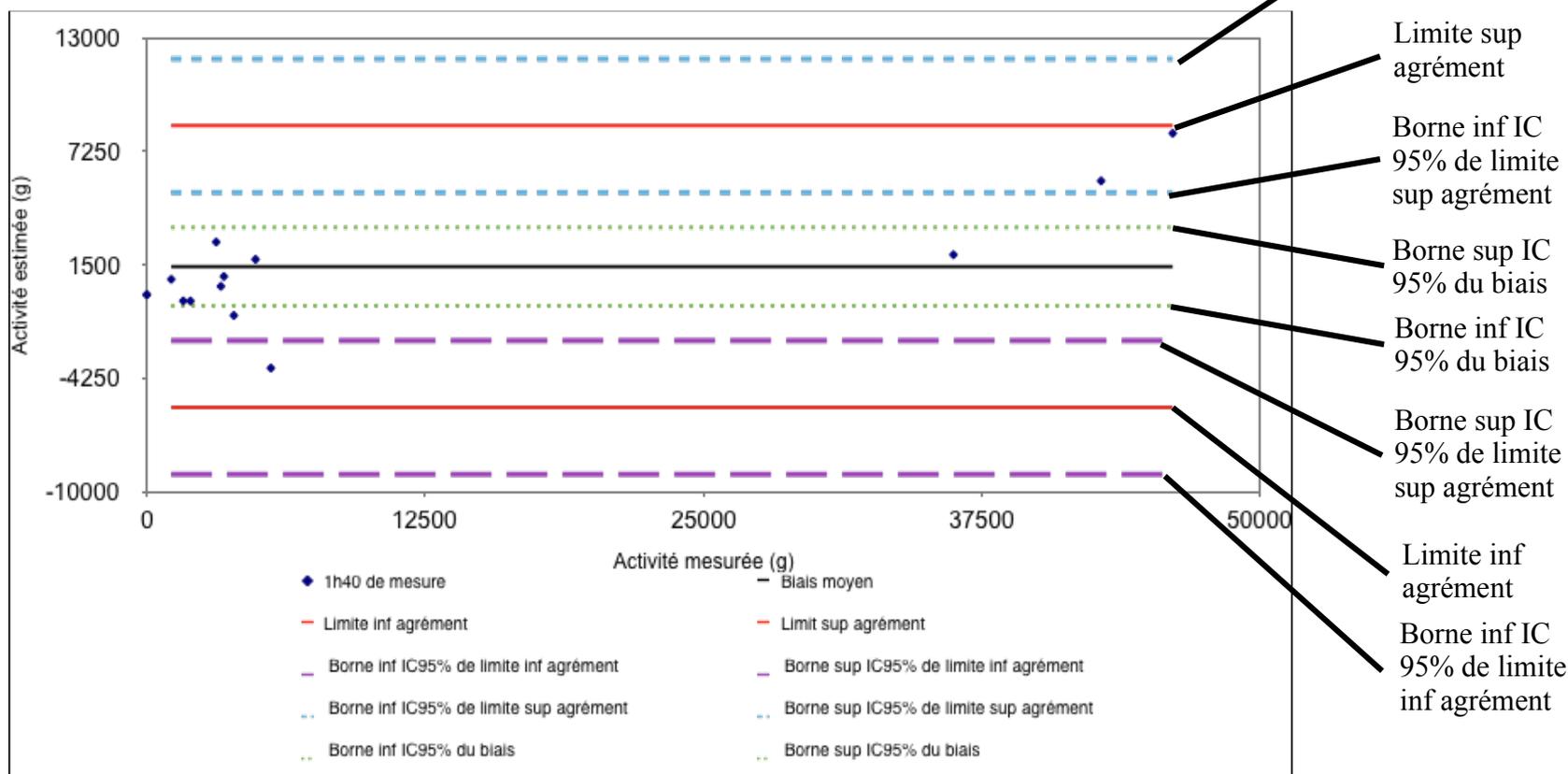


Représentation graphique de l'activité sur 1h40 (en g) mesurées sur 12 séances (une par chien), avec en abscisse la valeur de l'activité mesurée à l'aide de l'accéléromètre. En ordonnée se trouve la valeur de l'activité estimée à l'aide des abaques des comportements et des « scans » vidéo. La droite à 45° représente la concordance parfaite avec l'activité obtenue par accélérométrie.

La méthode de Bland Altman (figure 34) nous donne un biais moyen de 1426 g, ce qui correspond à l'écart systématique moyen entre l'estimation de l'activité à l'aide des abaques et de la vidéo et l'activité mesurée à l'aide de l'accéléromètre. Précédemment, nous avons considéré qu'un écart systématique de plus de 1000 g n'était pas acceptable, le premier critère de concordance entre ces deux méthodes de mesure n'est donc pas respecté. Cependant, l'IC_{95%} du biais moyen vaut [-550 ; 3404]. 1000 étant compris dans l'IC_{95%} (en valeur absolue) on peut émettre un doute quant au réel non respect du premier critère.

Les limites d'agrément sont respectivement -5701 g et 8555 g pour la limite inférieure et supérieure. Ces valeurs sont (en valeur absolue) toutes deux supérieures à 1000 g, qui était la valeur seuil fixée pour le second critère. Le second critère de concordance n'est donc également pas vérifié (Desquilbet, 2015).

Figure 34 : Graphique de Bland et Altman



Graphique de Bland et Altman représentant la concordance des mesures de l'activité sur 1h40 (en g) effectuées avec l'accéléromètre et estimées à l'aide des abaques et de la vidéo, sur 12 séances. Chaque point représente 1 séance, avec en abscisse la valeur de la moyenne de l'activité mesurée avec l'accéléromètre et estimée à l'aide des abaques et de la vidéo, et en ordonnée la différence de l'activité entre celle estimée à l'aide des abaques et de la vidéo et celle mesurée avec l'accéléromètre.

IV Discussion

1) Différence sains versus GRMD

Cette étude est la première utilisant l'accélérométrie pour évaluer l'activité de chiens GRMD. Grâce à l'accélérométrie, nous avons pu mettre en évidence une nette différence d'activité, dans la pièce de mesure, entre les chiens sains et les GRMD. La mise en évidence de cette différence significative d'activité entre chiens sains et GRMD est d'autant plus intéressante que les chiens GRMD étaient des chiens peu touchés sur le plan locomoteur (atteinte modérée), à l'exception d'Hipo, ce qui fait de l'outil accélérométrique un outil apparemment sensible.

Des études précédentes, réalisées uniquement sur des chiens sains avaient déjà mis en évidence la précision de l'accélérométrie, dans l'évaluation de l'activité. En effet, celle-ci avait permis de calculer un BEM plus proche de la réalité en intégrant à la formule l'activité mesurée par un accéléromètre (Wrigglesworth *et al.*, 2011). Elle avait également permis de mettre en évidence une différence d'activité cette fois-ci sur des chiens sains en cage, lorsque le personnel était présent dans le chenil par rapport aux moments où il ne l'était pas (Yamada et Tokuriki, 2000).

Les précédentes publications s'intéressant à l'activité des chiens dystrophiques avaient utilisé la vidéo pour quantifier celle-ci, soit en s'intéressant à la fréquence des mouvements ainsi que leur quantité, soit en réalisant la moyenne de l'activité motrice spontanée (Shin *et al.*, 2013; Hayashita-Kinoh *et al.*, 2015). L'une de ces deux études, enregistrant l'activité des chiens de 19h à 5h du matin, montrait également qu'il existait une différence d'activité significative entre les chiens sains et les chiens dystrophiques (LMD) concernant le temps passé à changer de position durant la nuit, ainsi qu'une différence mais non significative concernant le temps passé éveillé (Shin *et al.*, 2013). L'autre étude, montrait qu'il y avait également une différence entre l'activité motrice spontanée d'un chien CXMD_j traité via la thérapie génique celle d'un chien CXMD_j non traité (Hayashita-Kinoh *et al.*, 2015). Ces 2 études ont été réalisées sur un nombre moins important de chiens, 2 chiens seulement pour la deuxième et 7 pour la première, de plus les chiens n'avaient pas été appariés selon leur âge, leur sexe et leur tempérament habituel, ce qui était le cas dans notre étude. De plus, notre étude a été réalisée durant la journée, période pendant laquelle les chiens sont plus actifs comparé à la nuit. Ceci peut expliquer que les résultats obtenus dans notre étude montrent une différence plus significative.

Le visionnage de toutes les vidéos, semblait également faire ressortir une différence dans les comportements entre sains et GRMD. En effet, les GRMD se déplaçaient en marchant, passaient une grande partie de la séance couchés, exploraient moins la salle, ne sautaient pas. Alors que les sains se déplaçaient en trotinant, sautaient fréquemment, semblaient plus souvent gênés par le gilet et l'attaquait.

Cette étude nous a également permis de suivre l'évolution de chiens GRMD au cours de plusieurs mois, notamment pour ceux perdant la locomotion. On pouvait remarquer, une différence entre les chiens sains, les chiens GRMD présentant une atteinte modérée, et ceux présentant une forme accélérée ou intermédiaire. En effet, les chiens sains et les chiens GRMD présentant une atteinte modérée semblaient présenter des variations aléatoires de leur activité au cours des 10 mois, les chiens GRMD restant moins actifs que les sains. Alors que les chiens GRMD présentant une forme accélérée ou une forme intermédiaire semblaient présenter moins de variation de leur activité et celle-ci semblait plus faible, on pouvait même pour certains observer une diminution de l'activité au cours des mois.

Étant donné la bonne corrélation entre les méthodes alternatives (plus rapides de réalisation) et l'accélérométrie, ces méthodes devraient pouvoir être utilisées en routine dans le cadre du suivi de l'évolution des chiens GRMD.

2) Méthode alternative avec l'utilisation de « scans » vidéo et des abaques

Nous avons mis en évidence que les « scans » vidéo avec ou sans l'utilisation des abaques nous permettait également d'obtenir une bonne mesure de l'activité des chiens. De plus, ces « scans » vidéo sont beaucoup plus rapides à réaliser que le traitement des données accélérométriques, et ce même lorsque le calcul de la valeur de l'activité en g est effectué à l'aide des abaques.

En effet, réaliser un « scan » toutes les 5 minutes sur une séance de 2 heures prenait environ 15 minutes. Et maintenant que le tableau pour répertorier les comportements des « scans » est créé et relié à celui du nombre de « scans » de comportement actif, non actif et autre, ainsi qu'à celui de l'estimation à l'aide des abaques, il n'y a plus qu'à rentrer directement le relevé des comportements à chaque « scan ».

Alors que pour l'accélérométrie, il fallait environs 1 heure pour obtenir la valeur accélérométrique de l'activité sur une séance de 2 heures. En effet les données Equimetrix ® ne s'exportaient en fichier Excel ® que par plage de 20 minutes et il fallait relancer Equimétrie ® entre chaque exportation du fait d'un problème de logiciel. Il fallait ensuite filtrer les données Excel ® à 10Hz, mais, du fait de la quantité importante de données, Excel ® mettait du temps à réaliser cette action. Puis il fallait regrouper toutes les plages de 20 minutes sur un seul fichier Excel ®. C'était seulement après cela que nous pouvions utiliser les données pour les placer dans le fichier de calcul Excel ®, qui mettait également du temps pour nous donner le résultat.

Du fait de la bonne corrélation entre les deux méthodes, la méthode des « scans » vidéo peut donc être proposée comme alternative à l'accélérométrie afin de mesurer l'activité des chiens GRMD. En plus de la rapidité d'analyse, cette méthode offre l'avantage de ne pas nécessiter le port d'un équipement par le chien, qui pourrait interférer avec son niveau d'activité, si malgré l'habituation celui-ci reste gêné par le harnais ou le gilet. Par ailleurs, la quantification de certains comportements tels que l'alimentation ou l'abreuvement pourrait permettre d'évaluer des atteintes fonctionnelles, en l'occurrence la dysphagie. Cependant, une autre caméra pourrait être plus adaptée pour réaliser ces vidéos, en effet, la batterie de celle de notre étude n'avait pas une autonomie suffisante, et une partie de la salle ne pouvait être filmée (la partie juste devant la porte du sas).

Il pourrait aussi être intéressant de regarder les résultats obtenus avec un échantillonnage toutes les 3 minutes et le temps qu'il faudrait pour réaliser celui-ci. En effet, avec des « scans » réalisés toutes les 3 minutes le relevé des comportements serait encore plus précis, et le temps passé à analyser les données resterait certainement inférieur au temps mis pour traiter les données accélérométriques.

De plus, les abaques contiennent tous les comportements réalisés fréquemment par les chiens de notre étude, il serait nécessaire de les compléter, avec d'autres comportements, mais aussi en y ajoutant les valeurs d'autres chiens, en effet le nombre de chiens de cette étude est tout de même très faible pour obtenir des valeurs précises d'abaques. Ces abaques ont été créés pour s'assurer que la méthode d'analyse de l'activité via la réalisation de simples « scans » vidéo ne manquait pas de précision par rapport à la mesure accélérométrique, mais finalement cette méthode étant également sensible, l'utilisation des abaques n'apporte pas de réelle information supplémentaire, par rapport au « scans » vidéo ou à l'accélérométrie quant à l'activité du chien. Cet abaque reste cependant intéressant en lui-même comme recueil de valeurs accélérométriques par comportement chez les chiens sains et les chiens GRMD.

3) Augmentation de l'activité liée à la superficie de la salle

Nous avons mis en évidence, avec l'accélérométrie, qu'une augmentation de la superficie de l'espace de mesure permettait une augmentation de l'activité des chiens. En effet, le passage d'une

cage de 1,68 m² à une pièce de 16,43 m² a entraîné une augmentation très marquée de l'activité des chiens, aussi bien chez les sains que chez les GRMD.

Ceci avait déjà été noté lors du passage d'une cage de 1 à 54 m² (Clark *et al.*, 1991), ainsi que lors du passage d'une cage de chenil de 9 à 18 m² pour deux chiens (Normando *et al.*, 2014). Cependant, lors du passage de 1 à 2 m² aucune augmentation n'avait été notée (Hite *et al.*, 1977). C'est cette observation qui nous avait poussé à choisir cette nouvelle salle de mesure.

La réglementation sur la dimension des locaux d'hébergement des animaux de laboratoire exige dorénavant des espaces bien plus grands que ceux disponibles au laboratoire. Ainsi, la mise en application de cette réglementation imposera le passage de 1,68 m² par chien à 8 m² par chien. L'activité des chiens dans leur cage, qui correspond probablement davantage à leur activité quotidienne réelle, pourra alors être ré-évaluée dans ces nouvelles conditions.

4) Variation de l'activité au cours des jours de la semaine

Une diminution de l'activité a été notée au cours de la semaine, uniquement pour les chiens GRMD. Cette diminution peut être due à l'habituation à la salle qui est tous les jours plus importante, en effet, au fur et à mesure de la semaine, la salle présente moins d'attrait pour le chien GRMD qui se fatigue plus rapidement que le chien sain lorsqu'il bouge pour l'explorer. Ceci peut expliquer qu'au cours de la semaine, il passe de plus en plus de temps couché dans la salle, ce qui diminue son activité. Les chiens sains sont également sujets à l'habituation, mais leur condition physique étant bien meilleure ils continuent d'explorer la salle de manière semblable au cours de la semaine, à l'exception de Fébrèze un chien sain très calme pour qui on observait également cette diminution d'activité.

Il a également été noté une variation importante de l'activité des chiens, aussi bien sains que GRMD de jour en jour. Ces variations peuvent s'expliquer par le fait qu'un chien peut ne pas avoir le même comportement ou la même énergie d'un jour sur l'autre en fonction de ce qui lui est arrivé la veille ou dans la matinée. De plus, l'activité du laboratoire variant en fonction des jours, l'activité dans les couloirs adjacents à la pièce de mesure peut elle aussi varier, il peut donc y avoir plus ou moins de passage, de bruit (discussion dans les couloirs, portes qui se ferment, livraison), et tout ceci peut augmenter ou diminuer l'activité d'un chien. Ce point, sera important si cette méthode vient à être utilisée en routine car les chiens ne seront passés qu'un jour dans la pièce, il faudra donc essayer de choisir celui-ci loin de toutes perturbations.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence que l'accélérométrie et l'utilisation de « scans » vidéo avec ou sans utilisation d'abaques, pouvaient être de nouvelles techniques pour l'évaluation des chiens GRMD au cours des protocoles thérapeutiques. Ceci, notamment pour les chiens GRMD qui sont encore ambulatoires, mais qui ne sont plus capables de réaliser 10 secondes de marche régulière. Ces techniques permettraient, pour ces chiens, de limiter la perte d'information sur leur fonction motrice.

En effet, elles sont toutes deux non invasives, simples de réalisation, le traitement des données est également assez rapide (surtout pour les « scans » vidéo). Enfin, elles sembleraient permettre de mettre en évidence une différence d'activité entre chiens sains et GRMD, et pour l'accélérométrie même permettre un suivi longitudinal.

Il faudrait cependant pouvoir effectuer de nouvelles mesures sur un nombre bien plus important de chiens, en essayant par la même occasion de réaliser des « scans » vidéo toutes les 3 minutes au lieu de toutes les 5. Même complètement validées, ces méthodes ne viendraient pas remplacer l'analyse de marche, qui permet d'obtenir des informations précises sur l'évolution des chiens GRMD, mais lui apporter un complément, notamment lorsque celle-ci ne peut plus être réalisée.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN FR., AMBIKAI RAJAH E., LOVELL NH., CELLER BG. Classification of a known sequence of motions and postures from accelerometry data using adapted Gaussian mixture models. *Physiol. Meas.* 2006, **27**, 935-951.
- ALTAMIRANO F., VALLADARES D., HENRÍQUEZ-OLGUÍN C., CASAS M., LÓPEZ JR., ALLEN PD., *et al.* Nifedipine Treatment Reduces Resting Calcium Concentration, Oxidative and Apoptotic Gene Expression, and Improves Muscle Function in Dystrophic mdx Mice. *PLoS ONE*. 2013, **8**, e81222.
- AMBROSIO CE., FADEL L., GAIAD TP., MARTINS DS., ARAÚJO KPC., ZUCCONI E., *et al.* Identification of three distinguishable phenotypes in golden retriever muscular dystrophy. *Genet Mol Res*. 2009, **8**, 389-396.
- ANTHONY P., MONACO A., KUNKEL L. A giant locus for Duchenne and Becker muscular dystrophy gene. *TIG*. 1987, **3**, 33-37.
- APIS DESIGN., (2008) *CASCADE ORTHOTICS, Knee-Ankle-Foot Orthosis (KAFO)* [en ligne], [<http://www.cascadeorthotics.com/html/kafo-knee-ankle-orthosis.html>], (05/05/2015).
- ARAKI E., NAKAMURA K., NAKAO K., KAMEYA S., KOBAYASHI O., NONAKA I., *et al.* Targeted disruption of exon 52 in the Mouse Dystrophin Gene induced muscle degeneration similar to that observed in Duchenne Muscular Dystrophy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997, 492-497.
- ATENCIA- FERNANDEZ S., SHIEL RE., MOONEY CT., NOLAN CM. Muscular dystrophy in the Japanese Spitz: an inversion disrupts the DMD and RPGR genes. *Anim. Genet.* 2015, **46**, 175-184.
- BALTZER WI., CALISE DV., LEVINE JM., SHELTON GD., EDWARDS JF., STEINER JM. Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Weimaraner. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2007, **43**, 227-232.
- BANKS GB., CHAMBERLAIN JS. Chapter 9 The Value of Mammalian Models for Duchenne Muscular Dystrophy in Developing Therapeutic Strategies, *Mouse Models of Developmental Genetic Disease*. 2008,. Academic Press, Seattle, 431-453.
- BARTHÉLÉMY I., PINTO-MARIZ F., YADA E., DESQUILBET L., SAVINO W., SILVA-BARBOSA SD., *et al.* Predictive markers of clinical outcome in the GRMD dog model of Duchenne muscular dystrophy. *Dis. Model. Mech.* 2014, **7**, 1253-1261.
- BARTHÉLÉMY I., THIBAUD J-L. Évaluation quantitative du chien GRMD par accélérométrie et imagerie par résonance magnétique nucléaire des muscles appendiculaires. 2012, Thèse. Doctorat Vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort. Alfort.
- BEDU A-S., LABRUYÈRE JJ., THIBAUD JL., BARTHÉLÉMY I., LEPELIER D., SAUNDERS JH., *et al.* Age-Related Thoracic Radiographic Changes in Golden and Labrador Retriever Muscular Dystrophy. *Vet. Radiol. Ultrasound*. 2012, **53**, 492-500.
- BELLINGER AM., REIKEN S., CARLSON C., MONGILLO M., LIU X., ROTHMAN L., *et al.* Hypernitrosylated ryanodine receptor/calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. *Nat. Med.* 2009, **15**, 325-330.
- BENCHAOUIR R., MEREGALLI M., FARINI A., D'ANTONA G., BELICCHI M., GOYENVALLE A., *et al.* Restoration of Human Dystrophin Following Transplantation of Exon-Skipping-Engineered DMD Patient Stem Cells into Dystrophic Mice. *Cell Stem Cell*. 2007, **1**, 646-657.
- BÉRARD C., GIRARDOT F., PAYAN C. *Manuel de l'utilisateur, MFM-32 & MFM-20*, 3^e ed. 2009,.
- BERGMAN RL., INZANA KD., MONROE WE., SHELL LG., LIU LA., ENGVALL E., *et al.* Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Labrador retriever. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2002, **38**, 255-261.
- BLOT S, Courbe actuarielle de survie à l'UETM, Données personnelles communiquées le 15/12/15

- BOGDANOVICH S., KRAG TOB., BARTON ER., MORRIS LD., WHITTEMORE L-A., AHIMA RS., *et al.* Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature*. 2002, **420**, 418-421.
- BONILLA E., SAMITT CE., MIRANDA AF., HAYS AP., SALVIATI G., DIMAURO S., *et al.* Duchenne muscular dystrophy : deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell Press*. 1988, **54**, 447-452.
- BONILLA E., SAMITT CE., MIRANDA AF., HAYS AP., SALVIATI G., DIMAURO S., *et al.* Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell*. 1988, **54**, 447-452.
- BOWMAN A., SPCA S., DOWELL FJ., EVANS NP. 'Four Seasons' in an animal rescue centre; classical music reduces environmental stress in kennelled dogs. *Physiol. Behav.* 2015, **143**, 70-82.
- BROOKE MH., GRIGGS RC., MENDELL JR., FENICHEL GM., SHUMATE JB., PELLEGRINO RJ. Clinical trial in Duchenne dystrophy. I. The design of the protocol. *Muscle Nerve*. 1981, **4**, 186-197.
- BULFIELD G., SILLER WG., WIGHT PA., MOORE KJ. X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1984, **81**, 1189–1192.
- BUSHBY K., FINKEL R., BIRNKRANT DJ., CASE LE., CLEMENS PR., CRIPE L., *et al.* Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol.* 2010, **9**, 77–93.
- CARPENTER JL., HOFFMAN EP., ROMANUL FC., KUNKEL LM., ROSALES RK., MA NS., *et al.* Feline muscular dystrophy with dystrophin deficiency. *Am. J. Pathol.* 1989, **135**, 909.
- CERLETTI M., NEGRI T., COZZI F., COLPO R., ANDREETTA F., CROCI D., *et al.* Dystrophic phenotype of canine X-linked muscular dystrophy is mitigated by adenovirus-mediated utrophin gene transfer. *Gene Ther.* 2003, **10**, 750-757.
- CHAMBERLAIN JS., CORRADO K., RAFAEL JA., COX GA., HAUSER M., LUMENG C. Interactions between dystrophin and the sarcolemma membrane. *Soc. Gen. Physiol. Ser.* 1997, **52**, 19-29.
- CHEN Y., ZHENG Y., KANG Y., YANG W., NIU Y., GUO X., *et al.* Functional disruption of the dystrophin gene in rhesus monkey using CRISPR/Cas9. *Hum. Mol. Genet.* 2015, **24**, 3764-3774.
- CHETBOUL V., BLOT S., SAMPEDRANO CC., THIBAUD J-L., GRANGER N., TISSIER R., *et al.* Tissue Doppler imaging for detection of radial and longitudinal myocardial dysfunction in a family of cats affected by dystrophin-deficient hypertrophic muscular dystrophy. *J. Vet. Intern. Med. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 2006, **20**, 640-647.
- CHETBOUL V., CARLOS C., BLOT S., THIBAUD JL., ESCRIOU C., TISSIER R., *et al.* Tissue Doppler assessment of diastolic and systolic alterations of radial and longitudinal left ventricular motions in Golden Retrievers during the preclinical phase of cardiomyopathy associated with muscular dystrophy. *Am. J. Vet. Res.* 2004a, **65**, 1335-1341.
- CHETBOUL V., ESCRIOU C., TESSIER D., RICHARD V., POUCHELON J-L., THIBAUT H., *et al.* Tissue Doppler imaging detects early asymptomatic myocardial abnormalities in a dog model of Duchenne's cardiomyopathy. *Eur. Heart J.* 2004b, **25**, 1934-1939.
- CHETBOUL V., SERRES F., GOUNI V., TISSIER R., POUCHELON J-L. Radial strain and strain rate by two-dimensional speckle tracking echocardiography and the tissue velocity based technique in the dog. *J. Vet. Cardiol.* 2007, **9**, 69-81.
- CINRG C., *Find Out About the CINRG Network*. [en ligne]. (2015). [<http://www.cinrgresearch.org/cinrgnetwork/cqms.cfm>]. (04/05/2015).
- CLARK JD., CALPIN JP., ARMSTRONG RB. Influence of type of enclosure on exercise fitness of dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**, 1024-1028.
- COLLINS CA., MORGAN JE. Duchenne's muscular dystrophy: animal models used to investigate pathogenesis and develop therapeutic strategies. *Int. J. Exp. Pathol.* 2003, **84**, 165–172.
- COOPER BJ., VALENTINE BA., WILSON S., PATTERSON DF., CONCANNON PW. Canine

- muscular dystrophy: confirmation of X-linked inheritance. *J. Hered.*. 1988a, **79**, 405-408.
- COOPER BJ., WINAND NJ., STEDMAN H., VALENTINE BA., HOFFMAN EP., KUNKEL LM., *et al.* The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. *Nature*. 1988b, **334**, 154-156.
- CORDAZZO M-C. Mise au point d'outils pour l'évaluation clinique de chiens atteints de myopathie dystrophique. Thèse médecine vétérinaire. 2007, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort.
- COZZI F., CERLETTI M., LUVONI GC., LOMBARDO R., BRAMBILLA PG., FAVERZANI S., *et al.* Development of muscle pathology in canine X-linked muscular dystrophy. II. Quantitative characterization of histopathological progression during postnatal skeletal muscle development. *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 2001, **101**, 469-478.
- CROUTER SE., CHURILLA JR., BASSETT DR. Estimating energy expenditure using accelerometers. *Eur. J. Appl. Physiol.*. 2006, **98**, 601-612.
- D'ANGELO MG., BERTI M., PICCININI L., ROMEI M., GUGLIERI M., BONATO S., *et al.* Gait pattern in Duchenne muscular dystrophy. *Gait Posture*. 2009, **29**, 36-41.
- DESGUERRE I., CHRISTOV C., MAYER M., ZELLER R., BECANE H-M., BASTUJI-GARIN S., *et al.* Clinical Heterogeneity of Duchenne Muscular Dystrophy (DMD): Definition of Sub-Phenotypes and Predictive Criteria by Long-Term Follow-Up. *PLoS ONE*. 2009, **4**, e4347.
- DESQUILBET L. *Concordance entre deux séries de mesures*, version V6 .4, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Biostatistique, 2015, 20.
- DEVAUX J-Y., CABANE L., ESLER M., FLAOUTERS H., DUBOC D. Non-invasive evaluation of the cardiac function in Golden Retriever dogs by radionuclide angiography. *Neuromuscul. Disord., The Proceedings of the 5th National Colloquium on Neuromuscular Diseases*. 1993, **3**, 429-432.
- DOOLEY J., GORDON KE., DODDS L., MACSWEEN J. Duchenne muscular dystrophy: a 30-year population-based incidence study. *Clin. Pediatr. (Phila.)*. 2010, **49**, 177-179.
- DOW C., MICHEL KE., LOVE M., BROWN DC. Evaluation of optimal sampling interval for activity monitoring in companion dogs. *Am. J. Vet. Res.*. 2009, **70**, 444-448.
- EAGLE M., BAUDOIN SV., CHANDLER C., GIDDINGS DR., BULLOCK R., BUSHBY K. Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromuscul. Disord.*. 2002, **12**, 926-929.
- ECHIGOYA Y., AOKI Y., MISKEW B., PANESAR D., TOUZNIK A., NAGATA T., *et al.* Long-Term Efficacy of Systemic Multiexon Skipping Targeting Dystrophin Exons 45-55 With a Cocktail of Vivo-Morpholinos in Mdx52 Mice. *Mol. Ther. Acids*. 2015, **4**, e225.
- EMERY AE. *Duchenne muscular dystrophy*, 2nd ed, *Oxford Monographs on Molecular Genetics*. 1993, Oxford medical publications, 380 p.
- ESCOLAR DM., HENRICSON EK., MAYHEW J., FLORENCE J., LESHNER R., PATEL KM., *et al.* Clinical evaluator reliability for quantitative and manual muscle testing measures of strength in children. *Muscle Nerve*. 2001, **24**, 787-793.
- EthoVision® XT (2015) , *NOLDUS ANIMAL BEHAVIOUR Automatic Behavior Recognition*. [en ligne]. [<http://www.noldus.com/EthoVision-XT/behavior-recognition>]. (09/06/2015).
- FANCHON L. Biomécanique canine développement de l'analyse de mouvement sur tapis roulant application à l'étude de chiens atteints d'une myopathie dystrophique. 2003, Thèse Doctorat Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire D'Alfort. Alfort.
- FEDER D., RUGOLLINI M., SANTOMAURO JR A., OLIVEIRA LP., LIOI VP., DOS SANTOS R., *et al.* Erythropoietin reduces the expression of myostatin in mdx dystrophic mice. *Braz. J. Med. Biol. Res.*. 2014, **47**, 966-971.
- FINKEL RS., FLANIGAN KM., WONG B., BÖNNEMANN C., SAMPSON J., SWEENEY HL., *et al.* Phase 2a Study of Ataluren-Mediated Dystrophin Production in Patients with Nonsense Mutation Duchenne Muscular Dystrophy. *PLoS ONE*. 2013, **8**, e81302.
- FLORENCE JM., PANDYA S., KING WM., ROBISON JD., BATY J., MILLER JP., *et al.*

- Intrarater reliability of manual muscle test (Medical Research Council scale) grades in Duchenne's muscular dystrophy. *Phys. Ther.*. 1992, **72**, 115–122.
- FLORENCE JM., PANDYA S., KING WM., ROBISON JD., SIGNORE LC., WENTZELL M., *et al.* Clinical trials in Duchenne dystrophy Standardization and reliability of evaluation procedures. *Phys. Ther.*. 1984, **64**, 41–45.
- FOWLER WM., ABRESCH RT., AITKENS S., CARTER GT., JOHNSON ER., KILMER DD., *et al.* Profiles of neuromuscular diseases. Design of the protocol. *Am. J. Phys. Med. Rehabil. Assoc. Acad. Physiatr.*. 1995, **74**, S62-69.
- GARDNER-MEDWIN D. Clinical Features and Classification of the Muscular Dystrophies. *Br. Med. Bull.*. 1980, **36**, 109-116.
- GASCHEN F., BURGUNDER JM. Changes of skeletal muscle in young dystrophin-deficient cats: a morphological and morphometric study. *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 2001, **101**, 591-600.
- GASCHEN F., GASCHEN L., SEILER G., WELLE M., JAUNIN VB., JMAA DG., *et al.* Lethal peracute rhabdomyolysis associated with stress and general anesthesia in three dystrophin-deficient cats. *Vet. Pathol.*. 1998, **35**, 117-123.
- GASCHEN F., JAGGY A., JONES B. Congenital diseases of feline muscle and neuromuscular junction. *J. Feline Med. Surg.*. 2004, **6**, 355-366.
- GASCHEN FP., HOFFMAN EP., GOROSPE JR., UHL EW., SENIOR DF., CARDINET GH., *et al.* Dystrophin deficiency causes lethal muscle hypertrophy in cats. *J. Neurol. Sci.*. 1992, **110**, 149-159.
- GOYENVALLE A., GRIFFITH G., BABBS A., ANDALOUSSI SE., EZZAT K., AVRIL A., *et al.* Functional correction in mouse models of muscular dystrophy using exon-skipping tricyclo-DNA oligomers. *Nat. Med.*. 2015, **21**, 270-275.
- GOYENVALLE A., VULIN A., FOUGEROUSSE F., LETURCQ F., KAPLAN J-C., GARCIA L., *et al.* Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping. *Science*. 2004, **306**, 1796-1799.
- GRICE KO., VOGEL KA., LE V., MITCHELL A., MUNIZ S., VOLLMER MA. Adult norms for a commercially available Nine Hole Peg Test for finger dexterity. *Am. J. Occup. Ther.*. 2003, **57**, 570–573.
- Gross Motor Function Measure (GMFM) score sheet (GMFM-88 and GMFM 66 scoring) . s. d.,.
- GROUP TW. The World Health Organization quality of life assessment (WHOQOL): development and general psychometric properties. *Soc. Sci. Med.*. 1998, **46**, 1569–1585.
- HAAS M., VLCEK V., BALABANOV P., SALMONSON T., BAKCHINE S., MARKEY G., *et al.* European Medicines Agency review of ataluren for the treatment of ambulant patients aged 5 years and older with Duchenne muscular dystrophy resulting from a nonsense mutation in the dystrophin gene. *Neuromuscul. Disord.*. 2015, **25**, 5-13.
- HAMED SA. Drug evaluation: PTC-124--a potential treatment of cystic fibrosis and Duchenne muscular dystrophy. *IDrugs Investig. Drugs J.*. 2006, **9**, 783-789.
- HANSEN BD., LASCELLES BDX., KEENE BW., ADAMS AK., THOMSON AE. Evaluation of an accelerometer for at-home monitoring of spontaneous activity in dogs. *Am. J. Vet. Res.*. 2007, **68**, 468-475.
- HAYASHITA-KINOH H., YUGETA N., OKADA H., NITAHARA-KASAHARA Y., CHIYO T., OKADA T., *et al.* Intra-Amniotic rAAV-Mediated Microdystrophin Gene Transfer Improves Canine X-Linked Muscular Dystrophy and May Induce Immune Tolerance. *Mol. Ther.*. 2015, **23**, 627-637.
- HIBY E., ROONEY N., BRADSHAW J. Behavioural and physiological responses of dogs entering re-homing kennels. *Physiol. Behav.*. 2006, **89**, 385-391.
- HIRST RC., MCCULLAGH KJA., DAVIES KE. Utrophin upregulation in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol. Myopathies Cardiomyopathies Off. J. Mediterr. Soc. Myol. Ed. Gaetano Conte Acad. Study Striated Muscle Dis.*. 2005, **24**, 209-216.
- HITE M., HANSON HM., BOHIDAR NR., CONTI PA., MATTIS PA. Effect of cage size on patterns of activity and health of beagle dogs. *Lab. Anim. Sci.*. 1977, **27**, 60-64.

- HOFFMAN E., BROWN R., KUNKEL L. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*. 1987, 919-928.
- ISHIZAKI M., SUGA T., KIMURA E., SHIOTA T., KAWANO R., UCHIDA Y., *et al.* Mdx respiratory impairment following fibrosis of the diaphragm. *Neuromuscul. Disord.*. 2008, **18**, 342-348.
- JEANNET P-Y., AMINIAN K., BLOETZER C., NAJAFI B., PARASCHIV-IONESCU A. Continuous monitoring and quantification of multiple parameters of daily physical activity in ambulatory Duchenne muscular dystrophy patients. *Eur. J. Paediatr. Neurol.*. 2011, **15**, 40-47.
- JONES BR., BRENNAN S., MOONEY CT., CALLANAN JJ., MCALLISTER H., GUO LT., *et al.* Muscular dystrophy with truncated dystrophin in a family of Japanese Spitz dogs. *J. Neurol. Sci.*. 2004, **217**, 143-149.
- KAINULAINEN H., PAPAIOANNOU KG., SILVENNOINEN M., AUTIO R., SAARELA J., OLIVEIRA BM., *et al.* Myostatin/activin blocking combined with exercise reconditions skeletal muscle expression profile of mdx mice. *Mol. Cell. Endocrinol.*. 2015, **399**, 131-142.
- KAMEYA S., ARAKI E., KATSUKI M., MIZOTA A., ADACHI E., NAKAHARA K., *et al.* Dp260 disrupted mice revealed prolonged implicit time of the b-wave in ERG and loss of accumulation of β -dystroglycan in the outer plexiform layer of the retina. *Hum. Mol. Genet.*. 1997, **6**, 2195–2203.
- KARANTONIS DM., NARAYANAN MR., MATHIE M., LOVELL NH., CELLER BG. Implementation of a real-time human movement classifier using a triaxial accelerometer for ambulatory monitoring. *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed. Publ. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*. 2006, **10**, 156-167.
- KAYALI R., KU J-M., KHITROV G., JUNG ME., PRIKHODKO O., BERTONI C. Read-through compound 13 restores dystrophin expression and improves muscle function in the mdx mouse model for Duchenne muscular dystrophy. *Hum. Mol. Genet.*. 2012, **21**, 4007-4020.
- KERHOAS J-M. Approche thérapeutique de la myopathie de Duchenne par la surexpression pharmacologique de l'utrophine chez le chien. 2003, Thèse. Doctorat Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire D'Alfort. Alfort.
- KINALI M., ARECHAVALA-GOMEZA V., FENG L., CIRAK S., HUNT D., ADKIN C., *et al.* Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study. *Lancet Neurol.*. 2009, **8**, 918–928.
- KLARENBECK S., GERRITZEN-BRUNING MJ., ROZEMULLER AJM., VAN DER LUGT JJ. Canine X-Linked Muscular Dystrophy in a Family of Grand Basset Griffon Vendéen Dogs. *J. Comp. Pathol.*. 2007, **137**, 249-252.
- KLYMIUK N., BLUTKE A., GRAF A., KRAUSE S., BURKHARDT K., WUENSCH A., *et al.* Dystrophin-deficient pigs provide new insights into the hierarchy of physiological derangements of dystrophic muscle. *Hum. Mol. Genet.*. 2013, **22**, 4368-4382.
- KOENIG M., KUNKEL LM. Detailed analysis of the repeat domain of dystrophin reveals four potential hinge segments that may confer flexibility.. *J. Biol. Chem.*. 1990, **265**, 4560–4566.
- KORNEGAY JN., BOGAN DJ., BOGAN JR., CHILDERS MK., CUNDIFF DD., PETROSKI GF., *et al.* Contraction force generated by tarsal joint flexion and extension in dogs with golden retriever muscular dystrophy. *J. Neurol. Sci.*. 1999, **166**, 115-121.
- KORNEGAY JN., BOGAN JR., BOGAN DJ., CHILDERS MK., LI J., NGHIEM P., *et al.* Canine models of Duchenne muscular dystrophy and their use in therapeutic strategies. *Mamm. Genome*. 2012, **23**, 85-108.
- KORNEGAY JN., CUNDIFF DD., BOGAN DJ., BOGAN JR., OKAMURA CS. The cranial sartorius muscle undergoes true hypertrophy in dogs with golden retriever muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.*. 2003, **13**, 493-500.
- KORNEGAY JN., LI J., BOGAN JR., BOGAN DJ., CHEN C., ZHENG H., *et al.* Widespread Muscle Expression of an AAV9 Human Mini-dystrophin Vector After Intravenous Injection

- in Neonatal Dystrophin-deficient Dogs. *Mol. Ther.*. 2010, **18**, 1501-1508.
- LANFOSSI M., COZZI F., BUGINI D., COLOMBO S., SCARPA P., MORANDI L., *et al.*
Development of muscle pathology in canine X-linked muscular dystrophy. I. Delayed postnatal maturation of affected and normal muscle as revealed by myosin isoform analysis and utrophin expression. *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 1999, **97**, 127-138.
- LARCHER T., LAFOUX A., TESSON L., REMY S., THEPENIER V., FRANÇOIS V., *et al.*
Characterization of Dystrophin Deficient Rats: A New Model for Duchenne Muscular Dystrophy. *PLoS ONE*. 2014, **9**, e110371.
- LÉGER JJ., AUGIER N., LÉGER J., MORNET D., PONS F. La ou les dystrophine(s), trois années après leur découverte. *médecine/science*. 1991, **7**, 805-819.
- LE QUANG T. Utilisation d'un dispositif d'analyse de la démarche de type Gaitrite(R) chez le chien. Mémoire du diplôme d'études approfondies de génie mécanique. 2005,.
- LE RUMEUR E., WINDER SJ., HUBERT J-F. Dystrophin: More than just the sum of its parts. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Proteins Proteomics*. 2010, **1804**, 1713-1722.
- LINDEMANN U., HOCK A., STUBER M., KECK W., BECKER C. Evaluation of a fall detector based on accelerometers: a pilot study. *Med. Biol. Eng. Comput.*. 2005, **43**, 548-551.
- LIN LI. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics*. 1989, **45**, 255-268.
- LISZKA-HACKZELL JJ., MARTIN DP. Analysis of nighttime activity and daytime pain in patients with chronic back pain using a self-organizing map neural network. *J. Clin. Monit. Comput.*. 2005, **19**, 411-414.
- MAIN M., KAIRON H., MERCURI E., MUNTONI F. The Hammersmith Functional Motor Scale for Children with Spinal Muscular Atrophy: a Scale to Test Ability and Monitor Progress in Children with Limited Ambulation. *Eur. J. Paediatr. Neurol.*. 2003, **7**, 155-159.
- MALIK V., RODINO-KLAPAC LR., VIOLLET L., WALL C., KING W., AL-DAHAK R., *et al.*
Gentamicin-induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy. *Ann. Neurol.*. 2010, **67**, 771-780.
- MANZUR AY., KINALI M., MUNTONI F. Update on the management of Duchenne muscular dystrophy. *Arch. Dis. Child.*. 2008, **93**, 986-990.
- MARSH AP., EGGBEEN JD., KORNEGAY JN., MARKERT CD., CHILDERS MK. Kinematics of gait in Golden Retriever Muscular Dystrophy. *Neuromuscul. Disord. NMD*. 2010, **20**, 16-20.
- MARTIGNE L., SEGUY D., PELLEGRINI N., ORLIKOWSKI D., CUISSET J-M.,
CARPENTIER A., *et al.* Efficacy and tolerance of gastrostomy feeding in Duchenne muscular dystrophy. *Clin. Nutr.*. 2010, **29**, 60-64.
- MATHIE MJ., CELLER BG., LOVELL NH., COSTER ACF. Classification of basic daily movements using a triaxial accelerometer. *Med. Biol. Eng. Comput.*. 2004, **42**, 679-687.
- MATHIE MJ., COSTER ACF., LOVELL NH., CELLER BG. Accelerometry: providing an integrated, practical method for long-term, ambulatory monitoring of human movement. *Physiol. Meas.*. 2004, **25**, R1.
- MAYHEW JE., FLORENCE JM., MAYHEW TP., HENRICSON EK., LESHNER RT.,
MCCARTER RJ., *et al.* Reliable surrogate outcome measures in multicenter clinical trials of Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 2007, **35**, 36-42.
- MCDONALD CM., HENRICSON EK., ABRESCH RT., HAN JJ., ESCOLAR DM., FLORENCE JM., *et al.* the cooperative international neuromuscular research group duchenne natural history study—a longitudinal investigation in the era of glucocorticoid therapy: design of protocol and the methods used. *Muscle Nerve*. 2013, **48**, 32-54.
- MCDONALD CM., HENRICSON EK., HAN JJ., ABRESCH RT., NICORICI A., ELFRING GL.,
et al. The 6-minute walk test as a new outcome measure in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 2010, **41**, 500-510.
- MEIJER GA., WESTERTERP KR., VERHOEVEN FM., KOPER HB., TEN HOOR F. Methods to assess physical activity with special reference to motion sensors and accelerometers. *IEEE*

- Trans. Biomed. Eng.*. 1991, **38**, 221-229.
- MENDELL JR., RODINO-KLAPAC LR., SAHENK Z., ROUSH K., BIRD L., LOWES LP., *et al.* Eteplirsén for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann. Neurol.*. 2013, **74**, 637-647.
- MENZ HB., LORD SR., FITZPATRICK RC. Acceleration Patterns of the Head and Pelvis When Walking Are Associated With Risk of Falling in Community-Dwelling Older People. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*. 2003a, **58**, M446-M452.
- MENZ HB., LORD SR., FITZPATRICK RC. Age-related differences in walking stability. *Age Ageing*. 2003b, **32**, 137-142.
- MERCURI E., MAYHEW A., MUNTONI F., MESSINA S., STRAUB V., VAN OMMEN GJ., *et al.* Towards harmonisation of outcome measures for DMD and SMA within TREAT-NMD; Report of three expert workshops: TREAT-NMD/ENMC Workshop on outcome measures, 12th–13th May 2007, Naarden, The Netherlands; TREAT-NMD Workshop on outcome measures in experimental trials for DMD, 30th June–1st July 2007, Naarden, The Netherlands; Conjoint Institute of Myology TREAT-NMD Meeting on physical activity monitoring in neuromuscular disorders, 11th July 2007, Paris, France. *Neuromuscul. Disord.*. 2008, **18**, 894-903.
- MILLER R., SHARMA K., PAVLATH G., GUSSONI E., MYNHIER M., LANCTOT A., *et al.* Myoblast implantation in Duchenne muscular dystrophy: the San Francisco study. *Muscle nerve*. 1997, 469-478.
- MOISE NS., VALENTINE BA., BROWN CA., ERB HN., BECK KA., COOPER BJ., *et al.* Duchenne's cardiomyopathy in a canine model: electrocardiographic and echocardiographic studies. *J. Am. Coll. Cardiol.*. 1991, **17**, 812-820.
- MOK E., LETELLIER G., CUISSET J-M., DENJEAN A., GOTTRAND F., ALBERTI C., *et al.* Lack of Functional Benefit with Glutamine versus Placebo in Duchenne Muscular Dystrophy: A Randomized Crossover Trial. *PLoS ONE*. 2009, **4**, e5448.
- MONACO AP., NEVE RL., COLLETTI-FEENER C., BERTELSON CJ., KURNIT DM., KUNKEL LM. Isolation of candidate cDNAs for portions of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Nature*. 1986, **323**, 646-650.
- MORILLO DS., ROJAS OJEDA JL., CRESPO FOIX LF., JIMÉNEZ AL. An accelerometer-based device for sleep apnea screening. *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed. Publ. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*. 2010, **14**, 491-499.
- MORINE KJ., BISH LT., SELSBY JT., GAZZARA JA., PENDRAK K., SLEEPER MM., *et al.* Activin IIB receptor blockade attenuates dystrophic pathology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy: Activin Receptor Blockade. *Muscle Nerve*. 2010, **42**, 722-730.
- MOSHER DS., QUIGNON P., BUSTAMANTE CD., SUTTER NB., MELLERSH CS., PARKER HG., *et al.* A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs. *PLoS Genet.*. 2007, **3**, e79.
- NAJAFI B., AMINIAN K., PARASCHIV-IONESCU A., LOEW F., BÜLA CJ., ROBERT P. Ambulatory system for human motion analysis using a kinematic sensor: monitoring of daily physical activity in the elderly. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*. 2003, **50**, 711-723.
- NAKAMURA A., TAKEDA S. Mammalian Models of Duchenne Muscular Dystrophy: Pathological Characteristics and Therapeutic Applications. *J. Biomed. Biotechnol.*. 2011, **2011**, 1-8.
- NGUYEN F. La dystrophie musculaire du chien golden retriever (GRMD) : étude histologique de la forme néonatale fulminante et contribution à l'étude de la pathogénie des lésions. Thèse Méd vét. 2001, ENV Nantes.Nantes
- NORMANDO S., CONTIERO B., MARCHESINI G., RICCI R. Effects of space allowance on the behaviour of long-term housed shelter dogs. *Behav. Processes*. 2014, **103**, 306-314.
- NOURY N., DITTMAR A., CORROY C., BAGHAI R., WEBER JL., BLANC D., *et al.* VTAMN-- a smart clothe for ambulatory remote monitoring of physiological parameters and activity.

- Conf. Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Conf.*. 2004, **5**, 3266-3269.
- OHKAWARA K., OSHIMA Y., HIKIHARA Y., ISHIKAWA-TAKATA K., TABATA I., TANAKA S. Real-time estimation of daily physical activity intensity by a triaxial accelerometer and a gravity-removal classification algorithm. *Br. J. Nutr.*. 2011, **105**, 1681-1691.
- ORGANIZATION WH., others Field trial WHOQOL-100 february 1995: the 100 questions with response scales. 1995,.
- PANDYA S., FLORENCE JM., KING WM., ROBISON JD., OXMAN M., PROVINCE MA. Reliability of goniometric measurements in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Phys. Ther.*. 1985, **65**, 1339-1342.
- PART CE., KIDDIE JL., HAYES WA., MILLS DS., NEVILLE RF., MORTON DB., *et al.* Physiological, physical and behavioural changes in dogs (*Canis familiaris*) when kennelled: Testing the validity of stress parameters. *Physiol. Behav.*. 2014, **133**, 260-271.
- PASTORET C., SEBILLE A. mdx mice show progressive weakness and muscle deterioration with age. *J. Neurol. Sci.*. 1993, 97-105.
- PHILLIPS MF., QUINLIVAN R. *Calcium antagonists for Duchenne muscular dystrophy*, in: John Wiley & Sons, 1996.
- PHILLIPS MF., QUINLIVAN RCM., EDWARDS RHT., CALVERLEY PMA. Changes in Spirometry Over Time as a Prognostic Marker in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*. 2001, **164**, 2191-2194.
- PICHAVANT C., CHAPDELAIN P., CERRI DG., BIZARIO JCS., TREMBLAY JP. Electrotransfer of the full-length dog dystrophin into mouse and dystrophic dog muscles. *Hum. Gene Ther.*. 2010a, **21**, 1591-1601.
- PICHAVANT C., CHAPDELAIN P., CERRI DG., DOMINIQUE J-C., QUENNEVILLE SP., SKUK D., *et al.* Expression of Dog Microdystrophin in Mouse and Dog Muscles by Gene Therapy. *Mol. Ther.*. 2010b, **18**, 1002-1009.
- PINTO-MARIZ F., RODRIGUES CARVALHO L., DE MELLO W., DE QUEIROZ CAMPOS ARAÚJO A., GONÇALVES RIBEIRO M., DO CARMO SOARES ALVES CUNHA M., *et al.* Differential integrin expression by T lymphocytes: Potential role in DMD muscle damage. *J. Neuroimmunol.*. 2010, **223**, 128-130.
- PLASQUI G., WESTERTERP KR. Physical Activity Assessment With Accelerometers: An Evaluation Against Doubly Labeled Water. *Obesity*. 2007, **15**, 2371-2379.
- POOLE JL., BURTNER PA., TORRES TA., MCMULLEN CK., MARKHAM A., MARCUM ML., *et al.* Measuring Dexterity in Children Using the Nine-hole Peg Test. *J. Hand Ther.*. 2005, **18**, 348-351.
- POUYOL O. Validation de nouveaux outils de caractérisation du dysfonctionnement musculaire dans le modèle canin de la myopathie de Duchenne. Thèse Méd Vét. 2008, École Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon, 164 p.
- PROTOPOPOVA A., MEHRKAM LR., BOGGESS MM., WYNNE CDL. In-Kennel Behavior Predicts Length of Stay in Shelter Dogs. *PLoS ONE*. 2014, **9**.
- QUINLAN JG., HAHN HS., WONG BL., LORENZ JN., WENISCH AS., LEVIN LS. Evolution of the mdx mouse cardiomyopathy: physiological and morphological findings. *Neuromuscul. Disord.*. 2004, **14**, 491-496.
- QUINLAN JG., JOHNSON SR., MCKEE MK., LYDEN SP. Twitch and tetanus in mdx mouse muscle. *Muscle Nerve*. 1992, **15**, 837-842.
- ROMERO NB., BRAUN S., BENVENISTE O., LETURCQ F., HOGREL J-Y., MORRIS GE., *et al.* Phase I study of dystrophin plasmid-based gene therapy in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Hum. Gene Ther.*. 2004, **15**, 1065-1076.
- RUSSEL D., RIVARD L., BARTLETT D., ROSENBAUM P., PALISANO R. Frequently asked questions (FAQs) related to the GMFM-88. 2003,.
- SACCO P., JONES DA., DICK JR., VRBOVÁ G. Contractile properties and susceptibility to

- exercise-induced damage of normal and mdx mouse tibialis anterior muscle. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979. 1992, **82**, 227-236.
- SADOLET-PUCCIO HM., KUNKEL LM. Dystrophin and its isoforms. *Brain Pathol. Zurich Switz.* 1996, **6**, 25-35.
- SAMPAOLESI M., BLOT S., D'ANTONA G., GRANGER N., TONLORENZI R., INNOCENZI A., *et al.* Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs. *Nature.* 2006, **444**, 574-579.
- SCHANEN-BERGOT M. Evaluation de la fonction respiratoire dans les maladies neuromusculaires. *Assoc. Fr. Contre Myopathie.* 2009, **8**.
- SCHATZBERG SJ., ANDERSON LVB., WILTON SD., KORNEGAY JN., MANN CJ., SOLOMON GG., *et al.* Alternative dystrophin gene transcripts in golden retriever muscular dystrophy. *Muscle Nerve.* 1998, **21**, 991-998.
- SCHATZBERG SJ., OLBY NJ., BREEN M., ANDERSON LV., LANGFORD CF., DICKENS HF., *et al.* Molecular analysis of a spontaneous dystrophinknockout dog. *Neuromuscul. Disord.* 1999, **9**, 289-295.
- SCOTT E., EAGLE M., MAYHEW A., FREEMAN J., MAIN M., SHEEHAN J., *et al.* Development of a Functional Assessment Scale for Ambulatory Boys with Duchenne Muscular Dystrophy: Development of a Scale for Duchenne MD. *Physiother. Res. Int.* 2012, **17**, 101-109.
- SEKINE M., TAMURA T., TOGAWA T., FUKUI Y. Classification of waist-acceleration signals in a continuous walking record. *Med. Eng. Phys.* 2000, **22**, 285-291.
- SHARP NJ., KORNEGAY JN., VAN CAMP SD., HERBSTREITH MH., SECORE SL., KETTLE S., *et al.* An error in dystrophin mRNA processing in golden retriever muscular dystrophy, an animal homologue of Duchenne muscular dystrophy. *Genomics.* 1992, **13**, 115-121.
- SHIMATSU Y., KATAGIRI K., FURUTA T., NAKURA M., TANIOKA Y., YUASA K., *et al.* Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan (CXMD). *Exp. Anim.* 2003, **52**, 93-97.
- SHIN J-H., GREER B., HAKIM CH., ZHOU Z., CHUNG Y., DUAN Y., *et al.* Quantitative Phenotyping of Duchenne Muscular Dystrophy Dogs by Comprehensive Gait Analysis and Overnight Activity Monitoring. *PLoS ONE.* 2013, **8**, e59875.
- SICINSKI P., GENG Y., RYDER-COOK AS., BARNARD EA., DARLISON MG., BARNARD PJ. The molecular basis of muscular dystrophy in the mdx mouse: a point mutation. *Science.* 1989, **244**, 1578-1580.
- SMITH BF., YUE Y., WOODS PR., KORNEGAY JN., SHIN J-H., WILLIAMS RR., *et al.* An intronic LINE-1 element insertion in the dystrophin gene aborts dystrophin expression and results in Duchenne-like muscular dystrophy in the corgi breed. *Lab. Invest.* 2011, **91**, 216-231.
- SPENCER MJ., TIDBALL JG. Do immune cells promote the pathology of dystrophin-deficient myopathies?. *Neuromuscul. Disord.* 2001, **11**, 556-564.
- STEFFENSEN B., HYDE S., LYAGER S., MATTSSON E. Validity of the EK scale: a functional assessment of non-ambulatory individuals with Duchenne muscular dystrophy or spinal muscular atrophy. *Physiother. Res. Int. J. Res. Clin. Phys. Ther.* 2001, **6**, 119-134.
- SUTHERLAND DH., OLSHEN R., COOPER L., WYATT M., LEACH J., MUBARAK S., *et al.* The pathomechanics of gait in Duchenne muscular dystrophy. *Dev. Med. Child Neurol.* 1981, **23**, 3-22.
- SVENSSON E., HÄGER-ROSS C. Hand function in Charcot Marie Tooth: test retest reliability of some measurements. *Clin. Rehabil.* 2006, **20**, 896-908.
- TAKESHIMA Y. Nonsense readthrough therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Rinshō Shinkeigaku Clin. Neurol.* 2014, **54**, 1074-1076.
- THIBAUT J-L, AZZABOU N, BARTHELEMY I, FLEURY S, CABROL L, BLOT S, *et al.* Comprehensive longitudinal characterization of canine muscular dystrophy by serial NMR imaging of GRMD dogs. *Neuromuscul. Disord.* 2012, **22**, 85-99.
- THIBAUD J-L., MONNET A., BERTOLDI D., BARTHÉLÉMY I., BLOT S., CARLIER PG.

- Characterization of dystrophic muscle in golden retriever muscular dystrophy dogs by nuclear magnetic resonance imaging. *Neuromuscul. Disord.* 2007, **17**, 575-584.
- TURGEMAN T., HAGAI Y., HUEBNER K., JASSAL DS., ANDERSON JE., GENIN O., *et al.* Prevention of muscle fibrosis and improvement in muscle performance in the mdx mouse by halofuginone. *Neuromuscul. Disord.* 2008, **18**, 857-868.
- VALENTINE BA., COOPER BJ. Canine X-linked muscular dystrophy: selective involvement of muscles in neonatal dogs. *Neuromuscul. Disord. NMD.* 1991, **1**, 31-38.
- VALENTINE BA., COOPER BJ., CUMMINGS JF., DE LAHUNTA A. Canine X-linked muscular dystrophy: morphologic lesions. *J. Neurol. Sci.* 1990a, **97**, 1-23.
- VALENTINE BA., COOPER BJ., CUMMINGS JF., DE LAHUNTA A. Canine X-linked muscular dystrophy: morphologic lesions. *J. Neurol. Sci.* 1990b, **97**, 1-23.
- VALENTINE BA., COOPER BJ., DE LAHUNTA A., O'QUEEN R., BLUE JT. Canine X-linked muscular dystrophy An animal model of Duchenne muscular dystrophy: clinical studies. *Neurol. Sci.* 1988a, 69-81.
- VALENTINE BA., COOPER BJ., DE LAHUNTA A., O'QUINN R., BLUE JT. Valentine Canine X Linked MD As An Animal Model Of DMD Clinical Studies. *J. Neurol. Sci.* 1988b, **88**, 69-81.
- VALENTINE BA., WINAND NJ., PRADHAN D., KORNEGAY JN., COOPER BJ. Canine X-Linked Muscular Dystrophy as an Animal Model of Duchenne Muscular Dystrophy: A Review. *Am. J. Med. Genet.* 1992, 352-356.
- VAN BOCKEL EAP., LIND JS., ZIJLSTRA JG., WIJKSTRA PJ., MEIJER PM., VAN DEN BERG MP., *et al.* Cardiac assessment of patients with late stage Duchenne muscular dystrophy. *Neth. Heart J.* 2009, **17**, 232-237.
- VARNI JW., SEID M., RODE CA. The PedsQL: measurement model for the pediatric quality of life inventory. *Med. Care.* 1999, **37**, 126-139.
- VIEIRA NM., ELVERS I., ALEXANDER MS., MOREIRA YB., ERAN A., GOMES JP., *et al.* Jagged 1 Rescues the Duchenne Muscular Dystrophy Phenotype. *Cell.* 2015, **163**, 1204-1213.
- Vignos PJ, Jr., Spencer GE, Jr., Archibald KC Management of progressive muscular dystrophy of childhood. *JAMA.* 1963, **184**, 89-96.
- VOIT T., TOPALOGLU H., STRAUB V., MUNTONI F., DECONINCK N., CAMPION G., *et al.* Safety and efficacy of drisapersen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DEMAND II): an exploratory, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Neurol.* 2014, **13**, 987-996.
- VOS JH., VAN DER LINDE-SIPMAN JS., GOEDEGEBUURE SA. Dystrophy-like myopathy in the cat. *J. Comp. Pathol.* 1986, **96**, 335-341.
- VULIN A., BARTHÉLÉMY I., GOYENVALLE A., THIBAUD J-L., BELEY C., GRIFFITH G., *et al.* Muscle Function Recovery in Golden Retriever Muscular Dystrophy After AAV1-U7 Exon Skipping. *Mol. Ther.* 2012a, **20**, 2120-2133.
- VULIN A., BARTHÉLÉMY I., GOYENVALLE A., THIBAUD J-L., BELEY C., GRIFFITH G., *et al.* Muscle Function Recovery in Golden Retriever Muscular Dystrophy After AAV1-U7 Exon Skipping. *Mol. Ther.* 2012b, **20**, 2120-2133.
- WALLACE GB., NEWTON RW. Gowers' sign revisited. *Arch. Dis. Child.* 1989, **64**, 1317-1319.
- WALMSLEY GL., ARECHAVALA-GOMEZA V., FERNANDEZ-FUENTE M., BURKE MM., NAGEL N., HOLDER A., *et al.* A Duchenne Muscular Dystrophy Gene Hot Spot Mutation in Dystrophin-Deficient Cavalier King Charles Spaniels Is Amenable to Exon 51 Skipping. *PLoS ONE.* 2010, **5**.
- WANG Z., HALBERT CL., LEE D., BUTTS T., TAPSCOTT SJ., STORB R., *et al.* Elimination of contaminating cap genes in AAV vector virions reduces immune responses and improves transgene expression in a canine gene therapy model. *Gene Ther.* 2014, **21**, 363-370.
- WENTINK G., VAN DER LINDE-SPIMAN J., MEIJER AEF., KAMPHUISEN HA., VAN VORSTENBOSCH CIAH., HARTMAN W., *et al.* Myopathy with a possible recessive X-

- linked inheritance in a litter of Irish terriers. *Vet. Pathol.* 1972, 328-349.
- WETTERMAN CA., HARKIN KR., CASH WC., NIETFIELD JC., SHELTON GD. Hypertrophic muscular dystrophy in a young dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2000, **216**, 878-881, 864.
- WILLMANN R., POSSEKEL S., DUBACH-POWELL J., MEIER T., RUEGG MA. Mammalian animal models for Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.* 2009, **19**, 241-249.
- WINAND NJ., EDWARDS M., PRADHAN D., BERIAN CA., COOPER BJ. Deletion of the dystrophin muscle promoter in feline muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord. NMD.* 1994, **4**, 433-445.
- WRIGGLESWORTH DJ., MORT ES., UPTON SL., MILLER AT. Accuracy of the use of triaxial accelerometry for measuring daily activity as a predictor of daily maintenance energy requirement in healthy adult Labrador Retrievers. *Am. J. Vet. Res.* 2011, **72**, 1151-1155.
- YAMADA M., TOKURIKI M. Spontaneous Activities Measured Continuously by an Accelerometer in Beagle Dogs Housed in a Cage. *J. Vet. Med. Sci.* 2000, **62**, 443-447.
- YAM PS., PENPRAZE V., YOUNG D., TODD MS., CLONEY AD., HOUSTON-CALLAGHAN KA., *et al.* Validity, practical utility and reliability of Actigraph accelerometry for the measurement of habitual physical activity in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 2011, **52**, 86-91.
- YANG C-C., HSU Y-L. A Review of Accelerometry-Based Wearable Motion Detectors for Physical Activity Monitoring. *Sensors.* 2010, **10**, 7772-7788.
- YEUNG EW., WHITEHEAD NP., SUCHYNA TM., GOTTLIEB PA., SACHS F., ALLEN DG. Effects of stretch-activated channel blockers on [Ca²⁺]_i and muscle damage in the mdx mouse. *J. Physiol.* 2005, **562**, 367-380.
- YUKIHARA M., ITO K., TANOUE O., GOTO K., MATSUSHITA T., MATSUMOTO Y., *et al.* Effective drug delivery system for duchenne muscular dystrophy using hybrid liposomes including gentamicin along with reduced toxicity. *Biol. Pharm. Bull.* 2011, **34**, 712–716.
- ZATZ M., VIEIRA NM., ZUCCONI E., PELATTI M., GOMES J., VAINZOF M., *et al.* A normal life without muscle dystrophin. *Neuromuscul. Disord.* 2015, **25**, 371-374.

ANNEXES

Annexe 1 : Grille de score de la « Vignos Lower Extremity Scale » (Vignos PJ *et al.*, 1963)

Level	Description
1	Walks & Climbs Stairs, Independent
2	Walks & Stairs with Railing
3	Walks & Climbs Stairs (8) with Railing (>25 sec)
4	Walks, No Stairs
5	Walks, No Stairs & Assist to Stand
6	Walks with Assistance & Orthotics
7	Wheelchair, Independent WC Propulsion, Bed & ADLs
8	Wheelchair, Dependent WC Propulsion, Bed & ADLs
9	Wheelchair, Minimal ADLs
10	Bed, Dependent for ADLs

Annexe 2 : Grille de score de la « Brooke Upper Extremity Functional Rating Scale »

- 1** : partant de la position bras le long du corps, peut lever le bras à la verticale en touchant la tête.
- 2** : peut seulement mettre la main sur la tête, en fléchissant le coude.
- 3** : ne peut mettre la main sur la tête, mais peut porter un verre d'eau à la bouche (à deux mains si nécessaire).
- 4** : peut lever les mains à la bouche, mais peut porter un verre d'eau à la bouche.
- 5** : ne peut pas porter la main à la bouche, mais peut tenir un crayon ou prendre une pièce de monnaie sur la table.
- 6** : aucune fonction usuelle de la main.

Annexe 3 : Grille de score de la « North Star Ambulatory Assessment »

Activity	2	1	0	Comments
1. Stand	Stands upright, still and symmetrically, without compensation (with heels flat and legs in neutral) for minimum count of 3 seconds	Stands still but with some degree of compensation (e.g. on toes or with legs abducted or with bottom stuck out) for minimum count of 3 seconds	Cannot stand still or independently, needs support (even minimal)	
2. Walk	Walks with heel-toe or flat-footed gait pattern	Persistent or habitual toe walker, unable to heel-toe consistently	Loss of independent ambulation – may use KAFOs or walk short distances with assistance	
3. Stand up from chair	Keeping arms folded Starting position 90° hips and knees, feet on floor/supported on a box step.	With help from thighs or push on chair or prone turn	Unable	
4. Stand on one leg - right	Able to stand in a relaxed manner (no fixation) for count of 3 seconds	Stands but either momentarily or needs a lot of fixation e.g. by knees tightly adducted or other trick	Unable	
5. Stand on one leg - left	Able to stand in a relaxed manner (no fixation) for count of 3 seconds	Stands but either momentarily or needs a lot of fixation e.g. by knees tightly adducted or other trick	Unable	
6. Climb box step - right	Faces step – no support needed	Goes up sideways or needs support	Unable	
7. Climb box step - left	Faces step – no support needed	Goes up sideways or needs support	Unable	
8. Descend box step - right	Faces forward, climbs down controlling weight bearing leg. No support needed	Sideways, skips down or needs support	Unable	
9. Descend box step -left	Faces forward, climbs down controlling weight bearing leg. No support needed	Sideways, skips down or needs support	Unable	
10. Gets to sitting	Starts in supine – may use one hand to assist	Self assistance e.g. – pulls on legs or uses head-on-hands or head flexed to floor	Unable	
11. Rise from floor	From supine – no evidence of Gowers' manoeuvre*	Gowers' evident	(a) NEEDS to use external support object e.g. chair OR (b) Unable	Time (00.0s).....
12. Lifts head	In supine, head must be lifted in mid-line. Chin moves towards chest	Head is lifted but through side flexion or with no neck flexion	Unable	
13. Stands on heels	Both feet at the same time, clearly standing on heels only (acceptable to move a few steps to keep balance) for count of 3	Flexes hip and only raises forefoot	Unable	
14. Jump	Both feet at the same time, clear the ground simultaneously	One foot after the other (skip)	Unable	
15. Hop right leg	Clears forefoot and heel off floor	Able bend knee and raise heel, no floor clearance	Unable	
16. Hop left leg	Clears forefoot and heel off floor	Able bend knee and raise heel, no floor clearance	Unable	
17. Run (10m)	Both feet off the ground (no double stance phase during running)	'Duchenne jog'	Walk	Time (00.0s).....
				TOTAL= /34

Annexe 4 : Grille de score de la « Motor Function Measure »

Items MFM 32 (de 6 à 60 ans). ☺ Items MFM 20 (enfant de moins de 6 ans)

	D1	D2	D3
<p>1. ☺ COUCHE SUR LE DOS, TÊTE DANS L'AXE : maintient la tête dans l'axe puis la tourne complètement d'un côté puis de l'autre. commentaires :</p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>2. COUCHE SUR LE DOS : soulève la tête et la maintient soulevée. commentaires :</p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>3. ☺ COUCHE SUR LE DOS : fléchit la hanche et le genou de plus de 90° en soulevant le pied du tapis durant tout le mouvement. commentaires :</p> <p>côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/></p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>4. ☺ COUCHE SUR LE DOS, JAMBE SOUTENUE PAR L'EXAMINATEUR : de la position pied en flexion plantaire, réalise une flexion dorsale du pied à 90° par rapport à la jambe. commentaires :</p> <p>côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/></p>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
<p>5. ☺ COUCHE SUR LE DOS : soulève la main et la porte jusqu'à l'épaule opposée. commentaires :</p> <p>côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/></p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>6. ☺ COUCHE SUR LE DOS, MEMBRES INFÉRIEURS DEMI FLECHIS, ROTULES AU ZENITH, PIEDS SUR LE TAPIS LÉGEREMENT ÉCARTÉS : soulève le bassin ; la colonne lombaire, le bassin et les cuisses sont alignés et les pieds légèrement écartés. commentaires :</p>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
<p>7. ☺ COUCHE SUR LE DOS : se retourne sur le ventre et dégage les membres supérieurs de dessous le tronc. commentaires :</p> <p>côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/></p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>8. COUCHE SUR LE DOS : sans appui des membres supérieurs s'assied. commentaires :</p>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
<p>9. ☺ ASSIS SUR LE TAPIS : sans appui des membres supérieurs, maintient 5 secondes la position assise puis maintient 5 secondes un contact entre les 2 mains. commentaires :</p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>10. ☺ ASSIS SUR LE TAPIS, LA BALLE DE TENNIS DEVANT LE SUJET : sans appui des membres supérieurs se penche en avant, touche la balle puis se redresse. commentaires :</p>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
<p>11. ☺ ASSIS SUR LE TAPIS : sans appui des membres supérieurs, se met debout. commentaires :</p>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		

Items	D1	D2	D3
12. 😊 DEBOUT : sans appui des membres supérieurs, s'assied sur la chaise en gardant les pieds légèrement écartés. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
13. ASSIS SUR LA CHAISE : sans appui des membres supérieurs et sans appui contre le dossier de la chaise, maintient 5 secondes la position assise, tête et tronc dans l'axe. <i>commentaires :</i>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
14. 😊 ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, TETE POSITIONNEE EN FLEXION : de la position tête fléchie complètement, relève la tête puis la maintient relevée 5 secondes, le mouvement et le maintien se faisant tête dans l'axe. <i>commentaires :</i>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
15. ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, AVANT-BRAS POSES SUR LA TABLE, COUDES EN DEHORS DE LA TABLE : porte en même temps les 2 mains sur le sommet du crâne, la tête et le tronc restant dans l'axe. <i>commentaires :</i>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
16. ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, LE CRAYON SUR LA TABLE : sans bouger le tronc, atteint le crayon avec la main, avant-bras et main soulevés de la table, coude en extension complète en fin de mouvement. <i>commentaires :</i> côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
17. ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, 10 PIECES DE MONNAIE SUR LA TABLE : prend successivement et stocke 10 pièces dans une main au bout de 20 secondes. <i>commentaires :</i> côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
18. 😊 ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, UN DOIGT POSE AU CENTRE D'UN CD FIXE : fait le tour du CD avec le doigt, sans appui de la main. <i>commentaires :</i> côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
19. ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, LE CRAYON SUR LA TABLE : prend le crayon puis dessine une série continue de boucles sur toute la longueur du cadre touchant les bords supérieur et inférieur du cadre. Essai n° 1  Essai n°2  <i>commentaires :</i> côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
20. ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, LA FEUILLE DE PAPIER DANS LES MAINS : déchire la feuille pliée en 4 en commençant par le pli. <i>commentaires :</i>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3

Items	D1	D2	D3
21. 😊 ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, LA BALLE DE TENNIS SUR LA TABLE : soulève la balle puis retourne la main complètement en tenant la balle. <i>commentaires :</i> côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
22. 😊 ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, UN DOIGT POSE AU CENTRE DU CARRE : soulève le doigt puis le pose successivement sur les 8 dessins de la figure sans toucher le quadrillage. <i>commentaires :</i> côté : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
23. 😊 ASSIS SUR LA CHAISE OU DANS SON FAUTEUIL, MEMBRES SUPERIEURS LE LONG DU CORPS : pose en même temps les 2 avant-bras et/ou les mains sur la table sans bouger le tronc. <i>commentaires :</i>		<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	
24. 😊 ASSIS SUR LA CHAISE : sans appui des membres supérieurs, se met debout les pieds rapprochés. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
25. 😊 DEBOUT AVEC APPUI DES MEMBRES SUPERIEURS SUR UN MATERIEL : sans appui des membres supérieurs maintient 5 secondes la position debout pieds légèrement écartés, tête, tronc et membres inférieurs dans l'axe. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
26. DEBOUT, AVEC APPUI DES MEMBRES SUPERIEURS SUR UN MATERIEL : sans appui des membres supérieurs, lève un pied 10 secondes. <i>commentaires :</i> côté pied en appui : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
27. 😊 DEBOUT : sans appui, touche le sol avec une main puis se relève. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
28. DEBOUT SANS APPUI : fait 10 pas en avant sur les 2 talons. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
29. DEBOUT SANS APPUI : fait 10 pas en avant sur une ligne droite. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
30. 😊 DEBOUT SANS APPUI : court 10 mètres. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
31. DEBOUT SUR UN PIED SANS APPUI : saute sur un pied 10 fois de suite sur place. <i>commentaires :</i> côté pied en appui : droit : <input type="checkbox"/> gauche : <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
32. 😊 DEBOUT SANS APPUI : sans appui des membres supérieurs, atteint la position accroupie puis se relève 2 fois de suite. <i>commentaires :</i>	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3		
	★ D1=	D2=	D3=

*Tous les calculs sont effectués automatiquement lorsque les données sont saisies dans la Banque de données MFM

Coopération du patient : nulle moyenne optimale

Commentaires :

.....
.....
.....
.....
.....

CALCUL DES SCORES MFM 32* :

SCORES EN %

D1. Station debout et transferts	$\frac{\text{Total Dimension 1}}{39} \times 100 = \frac{\quad}{39} \times 100 = \dots\dots\dots\%$
D2. Motricité axiale et proximale	$\frac{\text{Total Dimension 2}}{36} \times 100 = \frac{\quad}{36} \times 100 = \dots\dots\dots\%$
D3. Motricité distale	$\frac{\text{Total Dimension 3}}{21} \times 100 = \frac{\quad}{21} \times 100 = \dots\dots\dots\%$
SCORE TOTAL =	$\frac{\text{Total des cotations}}{32 \times 3} \times 100 = \frac{96}{96} \times 100 = \dots\dots\dots\%$

☺ CALCUL DES SCORES MFM 20* :

SCORES EN %

D1. Station debout et transferts	$\frac{\text{Total Dimension 1}}{24} \times 100 = \frac{\quad}{24} \times 100 = \dots\dots\dots\%$
D2. Motricité axiale et proximale	$\frac{\text{Total Dimension 2}}{24} \times 100 = \frac{\quad}{24} \times 100 = \dots\dots\dots\%$
D3. Motricité distale	$\frac{\text{Total Dimension 3}}{12} \times 100 = \frac{\quad}{12} \times 100 = \dots\dots\dots\%$
SCORE TOTAL =	$\frac{\text{Total des cotations}}{20 \times 3} \times 100 = \frac{60}{60} \times 100 = \dots\dots\dots\%$

*Tous les calculs sont effectués automatiquement lorsque les données sont saisies dans la Banque de données MFM

Informations complémentaires pour la saisie dans la Banque de données MFM

La sévérité globale de l'atteinte motrice est : légère modérée sévère très sévère

Latéralité : Droitier Gaucher Indéterminé, ambidextre Inconnu

Fauteuil roulant à disposition : non manuel manuel + électrique

Grade de Vignos : _____

- 1 - Marche et monte les escaliers sans aide
- 2 - Marche et monte les escaliers à l'aide de rampes
- 3 - Marche et monte lentement les escaliers avec l'aide de rampes (plus de 12 secondes pour 4 marches standard)
- 4 - Marche sans aide et se lève d'une chaise mais ne peut monter les escaliers
- 5 - Marche sans aide mais ne peut se lever d'une chaise ou monter des escaliers
- 6 - Ne marche qu'avec assistance ou marche de façon indépendante avec des orthèses longues
- 7 - Marche avec des orthèses longues mais a besoin d'une assistance pour l'équilibre
- 8 - Tient debout avec des orthèses longues mais ne peut pas marcher, même avec assistance
- 9 - Confiné au fauteuil roulant.
- 10 - Confiné au lit.

Grade de Brooke : _____

- 1 - Partant les membres supérieurs le long du corps, peut écarter les bras avec un cercle complet jusqu'à qu'ils se touchent au dessus de la tête.
- 2 - Peut lever les bras au dessus de la tête seulement en fléchissant les coudes (en réduisant la circonférence du mouvement) ou en utilisant des muscles accessoires.
- 3 - Ne peut lever les mains au dessus de la tête mais peut lever un verre d'eau (180ml) en utilisant les deux mains si nécessaire.
- 4 - Peut lever les mains à la bouche mais ne peut lever un verre d'eau (180ml) à la bouche.
- 5 - Ne peut lever les mains à la bouche mais peut utiliser les mains pour tenir un crayon ou prendre des pièces de monnaie sur la table.
- 6 - Ne peut lever les mains à la bouche et n'a aucune fonction utile des mains

Ne pas omettre de vérifier les données médicales :

Diagnostic :	vérifié <input type="checkbox"/>	Modifications : _____
Date des premiers signes cliniques :	vérifié <input type="checkbox"/>	Modifications : _____
Participation à un essai clinique :	vérifié <input type="checkbox"/>	Modifications : _____
Traitements médicamenteux :	vérifié <input type="checkbox"/>	Modifications : _____
Antécédents chirurgicaux :	vérifié <input type="checkbox"/>	Modifications : _____

Données saisies : oui non

Annexe 5 : Grille de score de la « Hammersmith SMA functional motor scale » (Main *et al.*, 2003)

Name	Date	Age	Hosp. no.
Score 2 points	Score 1 point	Score 0	Score
(1) Frog/chair sitting no hand support	1 hand support	2 hand support	()
(2) Long sitting, no hands	1 hand support	2 hand support	()
(3) 1/2 roll from supine, both ways	One way (R/L?)	Unable	()
(4) Touches one hand to head (R/L?) (in sitting)	Flexes head to hand	Unable	()
(5) Touches two hands to head (in sitting)	Flexes head to hands	Unable	()
(6) Rolls prone to supine over R	Pushes on hand	Unable	()
(7) Rolls prone to supine over L	Pushes on hand	Unable	()
(8) Rolls supine to prone over R	Pulls on hand	Unable	()
(9) Rolls supine to prone over L	Pulls on hand	Unable	()
(10) Gets to lying from sitting (safely, not accidentally)		Unable	()
(11) Achieves prop on forearms-head up	Holds position when placed	Unable	()
(12) Lifts head from prone (arms down by sides)		Unable	()
(13) Achieves four point kneeling-head up	Holds position when placed	Unable	()
(14) Achieves prop on extended arms-head up	Hold position when placed	Unable	()
(15) Gets to sitting from lying through side lying	Through prone	Unable	()
(16) Crawls	Crawls, head up	Unable	()
(17) Lifts head from supine	Through side flexion	Unable	()
(18) Stands holding on with one hand	Stands with MINIMAL trunk support	Knee/hip support needed	()
(19) Stands independently: count > 3	Stands independently count of 3	Stands momentarily	()
(20) Takes > 4 steps unaided	Takes 2-4 steps unaided	Unable	()
			Total ()

All tests done without jackets/orthoses.

Annexe 6 : Grille de score de la « Gross Motor Function Measure »

Check (✓) the appropriate score: if an item is not tested (NT), circle the item number in the right column

Item	A: LYING & ROLLING	SCORE			NT	
1.	SUP, HEAD IN MIDLINE: TURNS HEAD WITH EXTREMITIES SYMMETRICAL.....	0	1	2	3	1.
* 2.	SUP: BRINGS HANDS TO MIDLINE, FINGERS ONE WITH THE OTHER.....	0	1	2	3	2.
3.	SUP: LIFTS HEAD 45°.....	0	1	2	3	3.
4.	SUP: FLEXES R HIP AND KNEE THROUGH FULL RANGE.....	0	1	2	3	4.
5.	SUP: FLEXES L HIP AND KNEE THROUGH FULL RANGE.....	0	1	2	3	5.
* 6.	SUP: REACHES OUT WITH R ARM, HAND CROSSES MIDLINE TOWARD TOY.....	0	1	2	3	6.
* 7.	SUP: REACHES OUT WITH L ARM, HAND CROSSES MIDLINE TOWARD TOY.....	0	1	2	3	7.
8.	SUP: ROLLS TO PR OVER R SIDE.....	0	1	2	3	8.
9.	SUP: ROLLS TO PR OVER L SIDE.....	0	1	2	3	9.
* 10.	PR: LIFTS HEAD UPRIGHT.....	0	1	2	3	10.
11.	PR ON FOREARMS: LIFTS HEAD UPRIGHT, ELBOWS EXT., CHEST RAISED.....	0	1	2	3	11.
12.	PR ON FOREARMS: WEIGHT ON R FOREARM, FULLY EXTENDS OPPOSITE ARM FORWARD.....	0	1	2	3	12.
13.	PR ON FOREARMS: WEIGHT ON L FOREARM, FULLY EXTENDS OPPOSITE ARM FORWARD.....	0	1	2	3	13.
14.	PR: ROLLS TO SUP OVER R SIDE.....	0	1	2	3	14.
15.	PR: ROLLS TO SUP OVER L SIDE.....	0	1	2	3	15.
16.	PR: PIVOTS TO R 90° USING EXTREMITIES.....	0	1	2	3	16.
17.	PR: PIVOTS TO L 90° USING EXTREMITIES.....	0	1	2	3	17.
TOTAL DIMENSION A						

Item	B: SITTING	SCORE			NT	
* 18.	SUP, HANDS GRASPED BY EXAMINER: PULLS SELF TO SITTING WITH HEAD CONTROL.....	0	1	2	3	18.
19.	SUP: ROLLS TO R SIDE, ATTAINS SITTING.....	0	1	2	3	19.
20.	SUP: ROLLS TO L SIDE, ATTAINS SITTING.....	0	1	2	3	20.
* 21.	SIT ON MAT, SUPPORTED AT THORAX BY THERAPIST: LIFTS HEAD UPRIGHT, MAINTAINS 3 SECONDS.....	0	1	2	3	21.
* 22.	SIT ON MAT, SUPPORTED AT THORAX BY THERAPIST: LIFTS HEAD MIDLINE, MAINTAINS 10 SECONDS.....	0	1	2	3	22.
* 23.	SIT ON MAT, ARM(S) PROPPING: MAINTAINS, 5 SECONDS.....	0	1	2	3	23.
* 24.	SIT ON MAT: MAINTAINS, ARMS FREE, 3 SECONDS.....	0	1	2	3	24.
* 25.	SIT ON MAT WITH SMALL TOY IN FRONT: LEANS FORWARD, TOUCHES TOY, RE-ERECTS WITHOUT ARM PROPPING.....	0	1	2	3	25.
* 26.	SIT ON MAT: TOUCHES TOY PLACED 45° BEHIND CHILD'S R SIDE, RETURNS TO START.....	0	1	2	3	26.
* 27.	SIT ON MAT: TOUCHES TOY PLACED 45° BEHIND CHILD'S L SIDE, RETURNS TO START.....	0	1	2	3	27.
28.	R SIDE SIT: MAINTAINS, ARMS FREE, 5 SECONDS.....	0	1	2	3	28.
29.	L SIDE SIT: MAINTAINS, ARMS FREE, 5 SECONDS.....	0	1	2	3	29.
* 30.	SIT ON MAT: LOWERS TO PR WITH CONTROL.....	0	1	2	3	30.
* 31.	SIT ON MAT WITH FEET IN FRONT: ATTAINS 4 POINT OVER R SIDE.....	0	1	2	3	31.
* 32.	SIT ON MAT WITH FEET IN FRONT: ATTAINS 4 POINT OVER L SIDE.....	0	1	2	3	32.
33.	SIT ON MAT: PIVOTS 90°, WITHOUT ARMS ASSISTING.....	0	1	2	3	33.
* 34.	SIT ON BENCH: MAINTAINS, ARMS AND FEET FREE, 10 SECONDS.....	0	1	2	3	34.
* 35.	STD: ATTAINS SIT ON SMALL BENCH.....	0	1	2	3	35.
* 36.	ON THE FLOOR: ATTAINS SIT ON SMALL BENCH.....	0	1	2	3	36.
* 37.	ON THE FLOOR: ATTAINS SIT ON LARGE BENCH.....	0	1	2	3	37.
TOTAL DIMENSION B						

Item	C: CRAWLING & KNEELING	SCORE				NT
38.	PR: CREEPS FORWARD 1.8m (6')	0	1	2	3	38.
* 39.	4 POINT: MAINTAINS, WEIGHT ON HANDS AND KNEES, 10 SECONDS	0	1	2	3	39.
* 40.	4 POINT: ATTAINS SIT ARMS FREE	0	1	2	3	40.
* 41.	PR: ATTAINS 4 POINT, WEIGHT ON HANDS AND KNEES	0	1	2	3	41.
* 42.	4 POINT: REACHES FORWARD WITH R ARM, HAND ABOVE SHOULDER LEVEL	0	1	2	3	42.
* 43.	4 POINT: REACHES FORWARD WITH L ARM, HAND ABOVE SHOULDER LEVEL	0	1	2	3	43.
* 44.	4 POINT: CRAWLS OR HITCHES FORWARD 1.8m (6')	0	1	2	3	44.
* 45.	4 POINT: CRAWLS RECIPROCALLY FORWARD 1.8m (6')	0	1	2	3	45.
* 46.	4 POINT: CRAWLS UP 4 STEPS ON HANDS AND KNEES/FEET	0	1	2	3	46.
47.	4 POINT: CRAWLS BACKWARDS DOWN 4 STEPS ON HANDS AND KNEES/FEET	0	1	2	3	47.
* 48.	SIT ON MAT: ATTAINS HIGH KN USING ARMS, MAINTAINS, ARMS FREE, 10 SECONDS	0	1	2	3	48.
49.	HIGH KN: ATTAINS HALF KN ON R KNEE USING ARMS, MAINTAINS, ARMS FREE, 10 SECONDS	0	1	2	3	49.
50.	HIGH KN: ATTAINS HALF KN ON L KNEE USING ARMS, MAINTAINS, ARMS FREE, 10 SECONDS	0	1	2	3	50.
* 51.	HIGH KN: KN WALKS FORWARD 10 STEPS, ARMS FREE	0	1	2	3	51.
TOTAL DIMENSION C						

Item	D: STANDING	SCORE				NT
* 52.	ON THE FLOOR: PULLS TO STD AT LARGE BENCH	0	1	2	3	52.
* 53.	STD: MAINTAINS, ARMS FREE, 3 SECONDS	0	1	2	3	53.
* 54.	STD: HOLDING ON TO LARGE BENCH WITH ONE HAND, LIFTS R FOOT, 3 SECONDS	0	1	2	3	54.
* 55.	STD: HOLDING ON TO LARGE BENCH WITH ONE HAND, LIFTS L FOOT, 3 SECONDS	0	1	2	3	55.
* 56.	STD: MAINTAINS, ARMS FREE, 20 SECONDS	0	1	2	3	56.
* 57.	STD: LIFTS L FOOT, ARMS FREE, 10 SECONDS	0	1	2	3	57.
* 58.	STD: LIFTS R FOOT, ARMS FREE, 10 SECONDS	0	1	2	3	58.
* 59.	SIT ON SMALL BENCH: ATTAINS STD WITHOUT USING ARMS	0	1	2	3	59.
* 60.	HIGH KN: ATTAINS STD THROUGH HALF KN ON R KNEE, WITHOUT USING ARMS	0	1	2	3	60.
* 61.	HIGH KN: ATTAINS STD THROUGH HALF KN ON L KNEE, WITHOUT USING ARMS	0	1	2	3	61.
* 62.	STD: LOWERS TO SIT ON FLOOR WITH CONTROL, ARMS FREE	0	1	2	3	62.
* 63.	STD: ATTAINS SQUAT, ARMS FREE	0	1	2	3	63.
* 64.	STD: PICKS UP OBJECT FROM FLOOR, ARMS FREE, RETURNS TO STAND	0	1	2	3	64.
TOTAL DIMENSION D						

Item	E: WALKING, RUNNING & JUMPING	SCORE				NT				
* 65.	STD, 2 HANDS ON LARGE BENCH: CRUISES 5 STEPS TO R.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	65.
* 66.	STD, 2 HANDS ON LARGE BENCH: CRUISES 5 STEPS TO L.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	66.
* 67.	STD, 2 HANDS HELD: WALKS FORWARD 10 STEPS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	67.
* 68.	STD, 1 HAND HELD: WALKS FORWARD 10 STEPS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	68.
* 69.	STD: WALKS FORWARD 10 STEPS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	69.
* 70.	STD: WALKS FORWARD 10 STEPS, STOPS, TURNS 180°, RETURNS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	70.
* 71.	STD: WALKS BACKWARD 10 STEPS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	71.
* 72.	STD: WALKS FORWARD 10 STEPS, CARRYING A LARGE OBJECT WITH 2 HANDS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	72.
* 73.	STD: WALKS FORWARD 10 CONSECUTIVE STEPS BETWEEN PARALLEL LINES 20cm (8") APART.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	73.
* 74.	STD: WALKS FORWARD 10 CONSECUTIVE STEPS ON A STRAIGHT LINE 2cm (3/4") WIDE.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	74.
* 75.	STD: STEPS OVER STICK AT KNEE LEVEL, R FOOT LEADING.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	75.
* 76.	STD: STEPS OVER STICK AT KNEE LEVEL, L FOOT LEADING.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	76.
* 77.	STD: RUNS 4.5m (15'), STOPS & RETURNS.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	77.
* 78.	STD: KICKS BALL WITH R FOOT.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	78.
* 79.	STD: KICKS BALL WITH L FOOT.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	79.
* 80.	STD: JUMPS 30cm (12") HIGH, BOTH FEET SIMULTANEOUSLY.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	80.
* 81.	STD: JUMPS FORWARD 30 cm (12"), BOTH FEET SIMULTANEOUSLY.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	81.
* 82.	STD ON R FOOT: HOPS ON R FOOT 10 TIMES WITHIN A 60cm (24") CIRCLE.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	82.
* 83.	STD ON L FOOT: HOPS ON L FOOT 10 TIMES WITHIN A 60cm (24") CIRCLE.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	83.
* 84.	STD, HOLDING 1 RAIL: WALKS UP 4 STEPS, HOLDING 1 RAIL, ALTERNATING FEET.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	84.
* 85.	STD, HOLDING 1 RAIL: WALKS DOWN 4 STEPS, HOLDING 1 RAIL, ALTERNATING FEET.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	85.
* 86.	STD: WALKS UP 4 STEPS, ALTERNATING FEET.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	86.
* 87.	STD: WALKS DOWN 4 STEPS, ALTERNATING FEET.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	87.
* 88.	STD ON 15cm (6") STEP: JUMPS OFF, BOTH FEET SIMULTANEOUSLY.....	0	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	88.

TOTAL DIMENSION E

Was this assessment indicative of this child's "regular" performance? YES NO

COMMENTS:

GMFM RAW SUMMARY SCORE

DIMENSION	CALCULATION OF DIMENSION % SCORES			GOAL AREA <small>(indicated with ✓/ check)</small>
A. Lying & Rolling	Total Dimension A 51	= <u>51</u>	× 100 = _____ %	A. <input type="checkbox"/>
B. Sitting	Total Dimension B 60	= <u>60</u>	× 100 = _____ %	B. <input type="checkbox"/>
C. Crawling & Kneeling	Total Dimension C 42	= <u>42</u>	× 100 = _____ %	C. <input type="checkbox"/>
D. Standing	Total Dimension D 39	= <u>39</u>	× 100 = _____ %	D. <input type="checkbox"/>
E. Walking, Running & Jumping	Total Dimension E 72	= <u>72</u>	× 100 = _____ %	E. <input type="checkbox"/>
TOTAL SCORE = $\frac{\%A + \%B + \%C + \%D + \%E}{\text{Total \# of Dimensions}}$				
$= \frac{\quad + \quad + \quad + \quad + \quad}{5} = \frac{\quad}{5} = \quad \%$				
GOAL TOTAL SCORE = $\frac{\text{Sum of \% scores for each dimension identified as a goal area}}{\# \text{ of Goal areas}}$				
$= \frac{\quad}{\quad} = \quad \%$				

GMFM-66 Gross Motor Ability Estimator Score ¹

GMFM-66 Score = _____ to _____
95% Confidence Intervals

previous GMFM-66 Score = _____ to _____
95% Confidence Intervals

change in GMFM-66 = _____

¹ from the Gross Motor Ability Estimator (GMAE) Software

TESTING WITH AIDS/ORTHOSES

Indicate below with a check (✓) which aid/orthosis was used and what dimension it was first applied. (There may be more than one).

AID	DIMENSION	ORTHOSIS	DIMENSION
Rollator/Pusher.....	<input type="checkbox"/> _____	Hip Control.....	<input type="checkbox"/> _____
Walker.....	<input type="checkbox"/> _____	Knee Control.....	<input type="checkbox"/> _____
H Frame Crutches.....	<input type="checkbox"/> _____	Ankle-Foot Control.....	<input type="checkbox"/> _____
Crutches.....	<input type="checkbox"/> _____	Foot Control.....	<input type="checkbox"/> _____
Quad Cane.....	<input type="checkbox"/> _____	Shoes.....	<input type="checkbox"/> _____
Cane.....	<input type="checkbox"/> _____	None.....	<input type="checkbox"/> _____
None.....	<input type="checkbox"/> _____	Other.....	<input type="checkbox"/> _____
Other.....	<input type="checkbox"/> _____	(please specify)	

(please specify)

RAW SUMMARY SCORE USING AIDS/ORTHOSES

DIMENSION	CALCULATION OF DIMENSION % SCORES			GOAL AREA <small>(indicated with ✓ check)</small>
F. Lying & Rolling	Total Dimension A	=	_____ × 100 = _____ %	A. <input type="checkbox"/>
	51	=	51	
G. Sitting	Total Dimension B	=	_____ × 100 = _____ %	B. <input type="checkbox"/>
	60	=	60	
H. Crawling & Kneeling	Total Dimension C	=	_____ × 100 = _____ %	C. <input type="checkbox"/>
	42	=	42	
I. Standing	Total Dimension D	=	_____ × 100 = _____ %	D. <input type="checkbox"/>
	39	=	39	
J. Walking, Running & Jumping	Total Dimension E	=	_____ × 100 = _____ %	E. <input type="checkbox"/>
	72	=	72	
TOTAL SCORE =	$\frac{\%A + \%B + \%C + \%D + \%E}{\text{Total \# of Dimensions}}$			
	=	+ + + +	= _____ = _____ %	
		5	5	
GOAL TOTAL SCORE =	$\frac{\text{Sum of \% scores for each dimension identified as a goal area}}{\text{\# of Goal areas}}$			
	=	_____	= _____ %	

GMFM-66 Gross Motor Ability Estimator Score ¹	
GMFM-66 Score = _____	_____ to _____
	95% Confidence Intervals
previous GMFM-66 Score = _____	_____ to _____
	95% Confidence Intervals
change in GMFM-66 = _____	
<small>¹ from the Gross Motor Ability Estimator (GMAE) Software</small>	

Annexe 7 : Mouvements à réaliser pour tester la force musculaire chez les patients atteint de DMD (Brooke *et al.*, 1981)

Position (for testing), muscle group	Range of strength which can be evaluated	Alternate position for testing
Position 1: Sitting		
Shoulder abduction	3-5	4
Elbow flexion	0-5	
Wrist flexion	0-5	
Wrist extension	0-5	
Thumb abduction	0-5	
Hip flexion	3-5	3
Knee extension	3-5	3
Ankle dorsiflexion	3-5	3
Ankle eversion	0-5	
Ankle inversion	0-5	
Position 2: Prone		
Neck extension	3-5	3
Shoulder external rotation	3-5	6
Knee flexion	3-5	3
Ankle plantar flexion	3-5	3
Hip extension	3-5	3
Position 3: Side lying		
Hip abduction	3-5	4
All muscles which could not be evaluated in position 1 or 2 for which the alternate position 3 is indicated		
Position 4: Supine		
Elbow extension	3-5	6
Neck flexion	3-5	5
Shoulder abduction and hip abduction if evaluation was not possible in the previous positions		
Position 5: Repeat side lying		
Neck flexion if evaluation was not possible in position 4		
Position 6: Repeat sitting		
Elbow extension and shoulder external rotation if evaluation was not possible in previous positions		

Annexe 8 : Grille de score clinique des chiens GRMD (Cordazzo, 2007)

Laboratoire de Neurobiologie / UETM (version 1.f. Juin 2004)
Quantification des signes cliniques sur chiens dystrophiques (GRMD, LRMD)

Chien ID :
 Protocole :

Date de l'examen :
 Opérateur :

CRITERES	Valeurs des signes cliniques			note
	0	1	2	
Dysphagie (1)	Aucune difficulté pour s'alimenter Repas rapide (croquettes)	Allongement du temps (plusieurs heures) (ou a/d ND , Fortol ND)	Incapacité à avaler aliment qui reste au fond de la gueule (sonde de gastrostomie)	
Dysphagie (2) Ptyalisme	Absent	Ptyalisme possible/intermittent	Ptyalisme prononcé/permanent	
Dysphagie (3) Langue	Normale	Base légèrement élargie	Base très élargie	
Ouverture buccale	Pas d'ankylose	Ankylose débutante Ouverture > 45°	Ouverture buccale réduite Ou Ouverture < 45°	
Activité générale	Animal joueur, vient vers les gens	Activité diminuée, reste dans son coin, déplacement lent	Animal en décubitus latéral	
Respiration	Normale	Polypnée	Abdominale/discordance	
Ss-total /12				
1. Position des doigts (appui)	Serrés en appui = normale	Faiblement écartés	Fortement écartés en appui	
2. Palmigradie	Absence	Modérée	Prononcée	
3. Plantigradie	Absence	Modérée	Prononcée	
4. Démarche	Normale	Raideur généralisée débutante Bunny hopping possible	Raideur généralisée prononcée (Abduction des coudes, Adduction des genoux)	
5. Transfert de poids	Absent		Poids placé sur l'avant	
6. Sautillement	Normal	Réduit (chute au bout de 4-5 foulées)	Impossible	
7. Fermeté des muscles proximaux	Normale à la palpation	Fermeté, rigidité musculaire généralisée Débutante	Fermeté, rigidité musculaire généralisée prononcée	
8. Rétractions musculo-tendineuses	Absentes	Ankylose débutante	Ankylose articulaire prononcée (vicieuse)	
9. Réflexes patellaires	Présents vifs	Présents diminués	Absents	
10. Relevé (déc. Latéral)	Normal	Ralenti	Impossible	
11. Franchisst. Obstacle	Normal	Réduit/limité/ralenti	Impossible	
Ss-total /22				
Total /34				

Remarques : Pour certains critères, on pourra utiliser les notations 0,5 et 1,5 (cf. posters décisionnels)

Annexe 9 : Poster décisionnel pour la sous-partie « digestif et respiratoire » (Cordazzo, 2007)

CRITERES	0	0,5	1	1,5	2
Dysphagie : vitesse d'ingestion	Aucune difficulté pour s'alimenter ; Repas rapide ; croquettes	Croquettes + pâtée	Allongement du temps (plusieurs heures) (ou a/d, fortol)	Difficulté à avaler aliment	Incapacité à avaler aliment ; sonde de gastrostomie
Dysphagie : Ptyalisme	Absent		Ptyalisme possible/intermittent		Ptyalisme prononcé /permanent
Dysphagie : palpation de la base de la langue	Base normale		Base légèrement élargie		Base très élargie
Ouverture buccale	Pas d'ankylose		Ankylose débutante Ouverture > 45°	Ouverture = 45°	Ouverture buccale réduite Ou Ouverture < 45°
Activité générale	Animal joueur, vient vers les gens		Activité diminuée, reste dans son coin, déplacement lent		Animal en décubitus latéral
Respiration	Normale		Polypnée	Alternance polypnée-discordance	Abdominale / discordance

Annexe 10 : Poster décisionnel pour la sous-partie « locomoteur » (Cordazzo, 2007)

SCORES	0	0,5	1	1,5	2
Ouverture buccale				Ouverture = 45°	
Position des doigts (en appui)	Serrés 		Faiblement écartés 		Fortement écartés en appui 
Palmigradie	Absence (angle = 90°) 	90° < Angle < 45°	Modérée (angle = 45°) 	Angle < 45°	Prononcée (angle = 0°) 
Plantigradie	Absence (angle = 90°) 	90° < Angle < 45° 	Modérée (angle = 45°) 	Angle < 45° 	Prononcée (angle = 0°) 
Démarche	Normale	Raideur cervicale	Raideur généralisée débutante		Raideur généralisée prononcée
Transfert de poids	Absent 		Début de transfert de poids		Poids placé sur l'avant 

MISE AU POINT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE D'ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ DES CHIENS GRMD À L'AIDE DE L'ACTIMÉTRIE

NOM et Prénom : PELLEGRINO Natacha

Résumé

La majorité des essais pré-cliniques sur les chiens GRMD utilisent l'analyse de marche comme moyen d'évaluation de ces chiens, or certains des chiens GRMD peuvent perdre, au cours d'un essai pré-clinique, leur capacité à réaliser les 10 secondes de marche continue et régulière indispensables à cette évaluation, ce qui entraîne alors une perte de données. Ceci nous a conduits à développer un autre outil d'évaluation basé sur l'actimétrie.

L'activité de chiens GRMD et de chiens sains a été mesurée durant 2 heures. Une méthode de référence, l'accélérométrie, a été comparée à deux méthodes alternatives basées sur de l'analyse vidéo : l'une basée sur des « scans », l'autre sur une estimation de l'activité calculée à partir des scans et d'un abaque de données accélérométriques.

L'accélérométrie a été assez sensible pour mettre en évidence une différence d'activité entre chiens sains et GRMD et a permis de suivre l'évolution de l'activité de chiens GRMD au cours du temps. La vidéo avec la réalisation de « scans » toutes les 5 minutes pourrait également être une méthode alternative à l'accélérométrie, car de traitement plus rapide.

Ces méthodes se présentent donc comme des méthodes prometteuses pour évaluer l'activité des chiens GRMD au cours des essais pré-cliniques, qu'ils soient ambulants ou non.

**Mots clés : OUTILS DE MESURE / ACTIVITÉ / CHIEN GRMD / ACTIMÉTRIE /
ACCÉLÉROMÉTRIE / VIDÉO / CARNIVORE DOMESTIQUE / CHIEN / MYOPATHIE
DYSTROPHIQUE**

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr Stéphane BLOT

Assesseur : Dr Caroline GILBERT

THE USE OF ACTIMETRY TO CREAT A NEW EVALUATION METHOD OF GRMD DOG

SURNAME : PELLEGRINO

Given name : Natacha

Summary

Many pre-clinical trials on GRMD dogs use gait analysis to evaluate them, yet some GRMD dogs can lose their ability to achieve 10 seconds of continuous and steady locomotion, mandatory for the gait analysis during a pre-clinical trial, causing missing data. This has led us to develop a new assessment tool using actimetry.

GRMD and healthy dogs activity has been recorded during two hours. A reference method, accelerometry, has been compared with two alternative methods based on video analysis : the first one based on scan analysis, and the other one based on an activity estimation upon scan analysis combined with a behavioral dataset of accelerometric values.

Accelerometry was sensitive enough to detect a difference between healthy and GRMD dogs regarding activity, and seemed convenient as a longitudinal follow-up tool of GRMD dogs activity over time. Video analysis, with the realisation of “scans” every five minutes could also be an alternative tool to the accelerometry, because of its faster processing.

These tools are promising methods to assess the GRMD dogs activity in pre-clinical trials whatever their ambulation status.

**Keywords : MEASURING TOOLS / ACTIVITY / ACTIGRAPHY / GRMD DOG /
ACTIGRAPHY / ACCELEROMETRY / VIDEO / DOMESTIC CARNIVORE / DOG /
DYSTROPHIC MYOPATHY**

Jury :

President : Pr.

Director : Pr Stéphane BLOT

Assessor : Dr Caroline GILBERT