

Table des matières

<u>INTRODUCTION</u>	5	
<u>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE DES CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LES LESIONS TRAUMATIQUES DU PLEXUS BRACHIAL DU CHIEN</u>	7	
I	ELEMENTS DE BIOLOGIE DES NERFS PERIPHERIQUES	9
I.1	Structure et physiologie du nerf périphérique	9
I.1.1	le nerf	9
I.1.2	structure et ultrastructure de la fibre nerveuse	10
I.1.2.1	le neurone	10
I.1.2.2	la cellule de Schwann	11
I.1.2.3	la membrane basale	13
I.1.3	éléments de neurobiologie cellulaire	13
I.1.3.1	le transport axonal	13
I.1.3.2	la conduction nerveuse-le rôle des cellules de Schwann	14
I.1.3.3	données sur la vitesse de repousse axonale	15
II	RAPPELS ANATOMIQUES DU PLEXUS BRACHIAL	17
II.1	Constitution du plexus brachial	17
II.2	Anatomie descriptive du plexus brachial	18
II.3	Distribution des nerfs issus du plexus brachial	20
II.4	Fonction des nerfs issus du plexus brachial	23
II.4.1	fonction motrice	23
II.4.2	fonction sensitive	24
II.4.3	participation au système sympathique	26
II.5	Comparaison avec le plexus brachial de l'homme	26
III	PATHOGENIE ET CLASSIFICATION DES LESIONS	27
III.1	Circonstances d'apparition des lésions traumatiques chez le chien	27
III.2	Classification des lésions	27
III.2.1	classification de SEDDON	27
III.2.2	classification de SUNDERLAND	28
III.2.3	avulsions et lésions radiculaires	31
IV	DIAGNOSTIC DES LESIONS DU PLEXUS BRACHIAL	33
IV.1	Diagnostic clinique	33
IV.1.1	examen orthopédique	33

IV.1.2 examen neurologique	33
IV.2 Examens complémentaires	36
IV.2.1 examen électrophysiologique	36
IV.2.2 examen myélographique	36
IV.2.3 imagerie par résonance magnétique	37
V EVOLUTION SPONTANEE ET POSSIBILITES THERAPEUTIQUES	38
V.1 Evolution spontanée	38
V.1.1 modification du corps cellulaire	38
V.1.2 modification du transport axonal	39
V.1.3 développement d'unités régénératives sur le segment proximal	39
V.1.4 dégénérescence wallérienne du segment distal	42
V.1.5 la mort cellulaire	43
V.1.6 les résultats de la repousse axonale	44
V.2 Traitement médical	45
V.3 Traitement chirurgical	46
V.3.1 traitement curatif	46
V.3.2 traitement palliatif	46
VI AXES ACTUELS DE RECHERCHE PRESENTANT DES PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES	48
VI.1 Amélioration de la repousse axonale	48
VI.1.1 étude de la physiologie neuronale	48
VI.1.2 stimulation de la repousse	48
VI.2 Amélioration des techniques chirurgicales	49
<u>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE</u>	51
I MATERIELS ET METHODES	53
I.1 Matériel	53
I.1.1 matériel animal	53
I.1.2 matériel de transfert génétique	54
I.1.2.1 matériel viral	54
I.1.2.2 protéine recombinante	55
I.1.2.2.1 la neurotrophine 3	55
I.1.2.2.2 isolement du gène codant pour NT3	55
I.1.2.2.3 incorporation du gène codant pour NT3 canine	55

II.2	Evaluation électrophysiologique	70
II.2.1	électromyographie	70
II.2.2	électroneurographie	73
II.3	Evaluation histologique	75
III	DISCUSSION	76
III.1	Analyse critique du protocole expérimental	76
III.1.1	critique du matériel	76
III.1.1.1	choix de l'espèce	76
III.1.1.2	choix des nerfs	76
III.1.1.3	choix du facteur de croissance	77
III.1.1.4	choix du vecteur	77
III.1.2	critique de la méthode	78
III.1.2.1	choix des groupes	78
III.1.2.2	choix de la lésion	78
III.1.2.3	choix des moyens d'évaluation	79
III.1.2.4	choix des délais d'évaluation	80
III.2	Analyse des résultats	80
III.2.1	étude clinique	80
III.2.2	étude électrophysiologique	81
III.2.3	étude histologique	82
III.3	Intérêts de la manipulation	82
III.3.1	intérêts escomptés	82
III.3.2	objectifs atteints	83
	<u>CONCLUSION</u>	85
	<u>ANNEXES</u>	87
	<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	99

Introduction

Les possibilités thérapeutiques s'offrant au clinicien face à une lésion d'un nerf périphérique sont rares. Hormis une reconstruction micro-chirurgicale, réalisable uniquement lors de plaies par section, il se trouve souvent incapable de sauvegarder la fonction du nerf lésé et doit se résoudre aux traitements palliatifs (arthrodèse, amputation...), en particulier, en présence d'une lésion purement axonale, sans perte de l'intégrité anatomique de l'ensemble du nerf périphérique.

La mise au point des techniques de neurotisation (transfert d'un nerf d'importance fonctionnelle mineure vers un effecteur essentiel dénervé) grâce à Seddon dans les années soixante a élargi le champ thérapeutique chez l'homme puis chez l'animal. Cependant, la relative lenteur de la repousse axonale spontanée (quelques millimètres par jour dans les meilleures conditions) laisse le temps aux complications d'ankylose ou de fibrose musculaire apparaître. Pour cette raison, une accélération de la régénération nerveuse est recherchée. Les facteurs de croissance à tropisme nerveux sont nombreux (neurotrophines, facteurs dérivés du Fibroblast Growth Factor...) et ont été abondamment étudiés (5, 68, 74). L'administration de ces facteurs, dont la demi-vie est généralement courte, a limité leur emploi à la simple démonstration expérimentale.

L'élaboration de vecteurs efficaces de thérapie génique a ouvert des horizons inespérés en matière de supplémentation in vivo. C'est tout naturellement que tous ces axes de recherche se sont rencontrés (39, 41).

Notre étude s'inscrit dans un vaste projet de recherche dédié au plexus brachial, à son anatomie (4), à ses lésions et aux possibilités thérapeutiques (22). Après avoir validé un modèle de lésion nerveuse périphérique et un vecteur adénoviral recombinant (15, 32, 37), le but est d'évaluer l'influence d'une neurotrophine (NT3) canine délivrée par thérapie génique après une lésion d'axonotmesie sur les nerfs ulnaire et musculo-cutané chez le chien de laboratoire.

La partie bibliographique de ce travail rappelle les notions générales actuelles sur les lésions nerveuses périphériques et leur possibilités thérapeutiques.

La partie expérimentale, réalisée selon les normes imposées par l'éthique pour les 15 beagles sacrifiés, est consacrée à l'évaluation clinique et électrophysiologique des animaux des différents lots. L'évaluation histologique s'intègre dans un travail associé à celui-ci ; elle devra en outre permettre d'établir des valeurs moyennes de repousse axonale après lésion d'axonotmesie chez le chien.

PREMIERE PARTIE :

**SYNTHESE DES CONNAISSANCES ACTUELLES
SUR LES LESIONS TRAUMATIQUES DU PLEXUS
BRACHIAL DU CHIEN**

ELEMENTS DE BIOLOGIE DES NERFS PERIPHERIQUES

I.1 Structure et physiologie du nerf périphérique

I.1.1 Le nerf

Une fois constitué à partir des racines nerveuses (ou après division des plexus nerveux), un nerf périphérique est formé par la réunion d'un ou plusieurs fascicules de fibres nerveuses. Ces fibres nerveuses (axones ou dendrites) enveloppées dans l'endonèvre se regroupent en faisceaux (ou fascicule). Chaque fascicule est entouré et délimité par le périnèvre, enveloppe lamellaire faite de une à dix couches de cellules aplaties (8), (43).

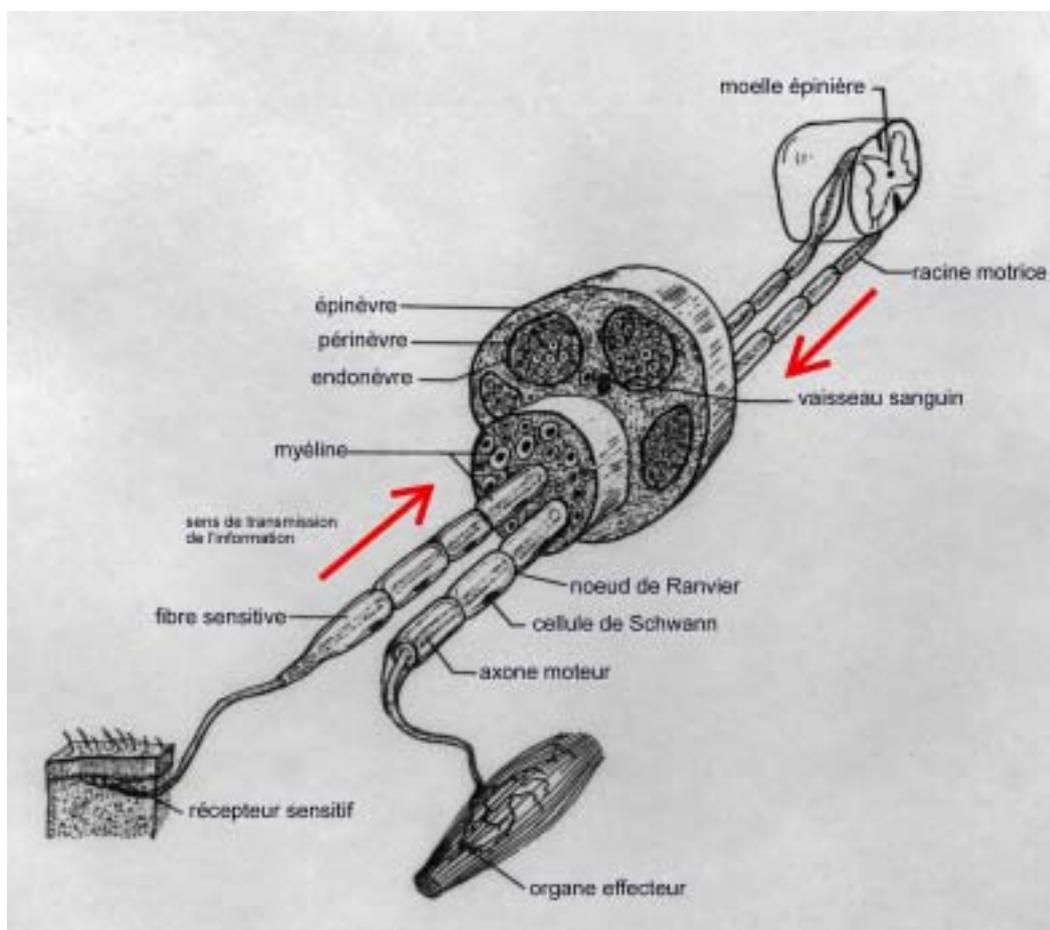


Figure 1: Structure d'un nerf périphérique contenant des fibres motrices et sensibles, d'après CHRISMAN (18)

Les nerfs comportant plus d'un fascicule sont enveloppés d'une couche circulaire de tissu conjonctif lâche : l'épinèvre.

Une fibre nerveuse est définie comme la réunion d'un axone, unité de base du nerf, et de la cellule de Schwann qui lui est propre. Chacune de ces fibres est enveloppée d'un fin feutrage de tissu conjonctif, l'endonèvre.

La vascularisation du nerf est assurée par un réseau de vaisseaux sanguins intrinsèque que l'on retrouve dans l'épinèvre, le périnèvre et l'endonèvre (60).

La présence et la structure de l'épinèvre confèrent au nerf sa résistance mécanique. La résistance d'un nerf à l'élongation diminue dès l'instant où l'épinèvre est rompu (38). Un nerf présente un comportement élastique jusqu'à 11 à 17% d'élongation. La rupture intervient après 69% d'élongation (38).

Les études de KENDALL (42) et de ses collaborateurs ont permis d'attester chez le rat l'absence de dommages structuraux dans un nerf avant 20 à 32% d'élongation.

1.1.2 Structure et ultrastructure de la fibre nerveuse

1.1.2.1 **Le neurone**

Dans le système nerveux périphérique, les prolongements cytoplasmiques issus du corps cellulaire présent dans la moelle épinière sont de deux types : les dendrites et l'axone.

Dans le corps cellulaire, on trouve presque toujours un noyau volumineux. Le cytoplasme y est riche en réticulum endoplasmique granulaire, encore appelé corps de Nissl en microscopie optique. L'appareil de Golgi est également localisé près du noyau.

L'axone diffère du corps cellulaire par son cytoplasme ou axoplasme. Il est très riche en éléments du cytosquelette, possède des mitochondries de forme allongée et est riche en vésicules de transport (70). On distingue quatre segments constitutifs de l'axone : le cône d'émergence, le segment initial, l'axone en propre et l'arborisation terminale. Chacun d'entre eux possède ses particularités cytoplasmiques.

Le cône d'émergence possède encore des fragments de corps de Nissl et des ribosomes.

Le segment initial voit débiter l'alignement des composants axoplasmiques. Quelques ribosomes et du réticulum endoplasmique lisse persistent. On y trouve déjà des neurotubules et des neurofilaments.

Ces organites sont majoritairement présents dans l'axone en propre, accompagnés par des mitochondries et des densifications granulaires sous les nœuds de Ranvier. On observe de plus la présence de lysosomes en grand nombre, dans 80 à 90% des régions para-nodales (36).

Quant au dernier segment, l'arborisation terminale, on y trouve surtout des vésicules de transport (75).

Les axones des fibres nerveuses périphériques sont toujours entourés par des cellules de Schwann.

I.1.2.2 La cellule de Schwann

Les deux principales caractéristiques morphologiques des cellules de Schwann sont de contenir un ou plusieurs axones dans des invaginations de leur membrane cytoplasmique et d'être revêtues d'une lame basale.

Leur particularité morpho-fonctionnelle réside dans leur capacité d'assurer la production de la myéline. Ceci permet de distinguer deux types de fibres nerveuses :

- Les fibres amyéliniques : L'axone est simplement entouré par le cytoplasme de la cellule de Schwann. Chaque axone est logé dans une invagination de la membrane plasmique de la cellule de Schwann. Le nombre d'axones engainés par une seule cellule de Schwann varie de un à plusieurs dizaines selon la fibre. La fibre amyélinique est donc constituée par un faisceau d'axones associés à une série longitudinale de cellules de Schwann. Le diamètre de ces fibres varie entre 0,5 et 5 μm , avec un axone dont le diamètre moyen est de 0,9 μm chez le rat (3).

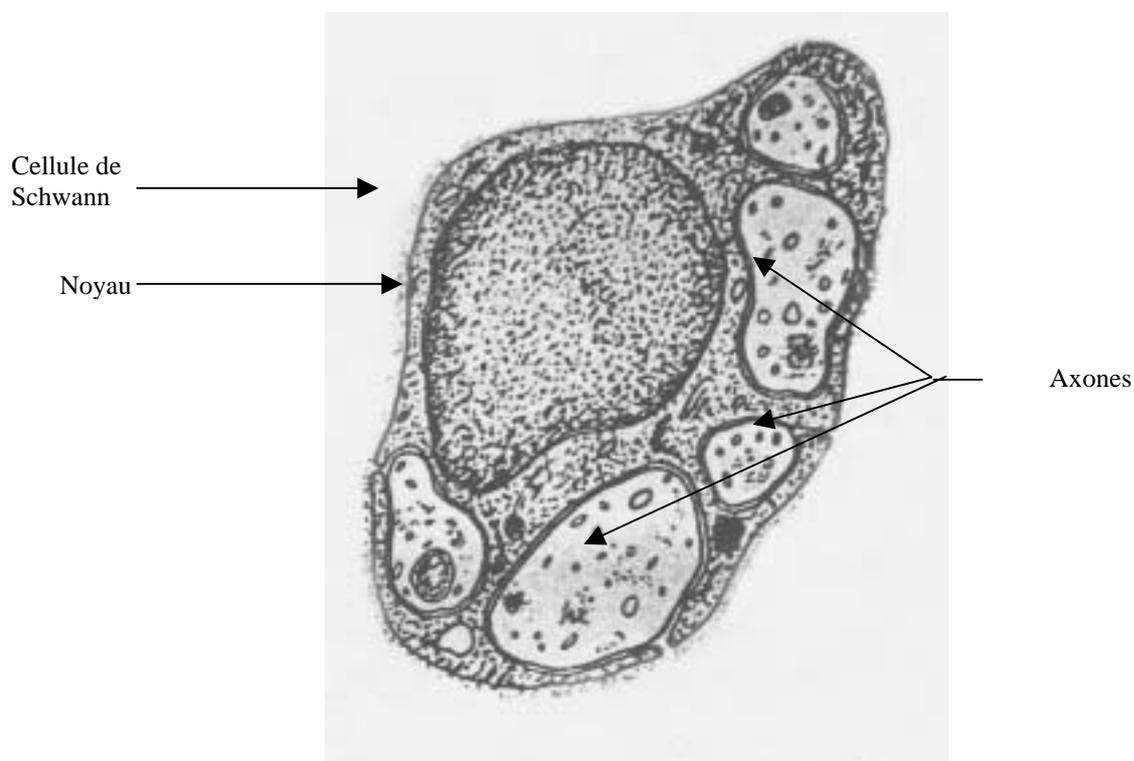


Figure 2: Schéma d'une fibre amyélinique vue en microscopie électronique, d'après MILLESI (57)

- Les fibres myélinisées : Ce type de fibre n'existe que chez les vertébrés. Dans ce cas, chaque cellule de Schwann est propre à un axone. L'axone est entouré d'un nombre variable de couches concentriques de membrane plasmique : la gaine de myéline. On peut trouver jusqu'à 100 couches superposées. Cette gaine, présente sur toute la longueur de l'axone est formée par une succession de cellules de Schwann, chacune ne recouvrant qu'un segment de l'axone. L'espace entre deux cellules de Schwann consécutives est appelé nœud de Ranvier. La distance séparant deux nœuds consécutifs varie entre 0,4 et 1,6 mm chez le lapin (21).

Ces fibres ont donc un diamètre plus important que les précédentes. Chez le rat, dans le nerf du muscle gastrocnémien interne, le diamètre moyen des fibres myélinisées oscille entre 6,9 et 8,9 μm (60). Le diamètre moyen des axones de ces fibres chez le rat est de 4,6 μm (3).

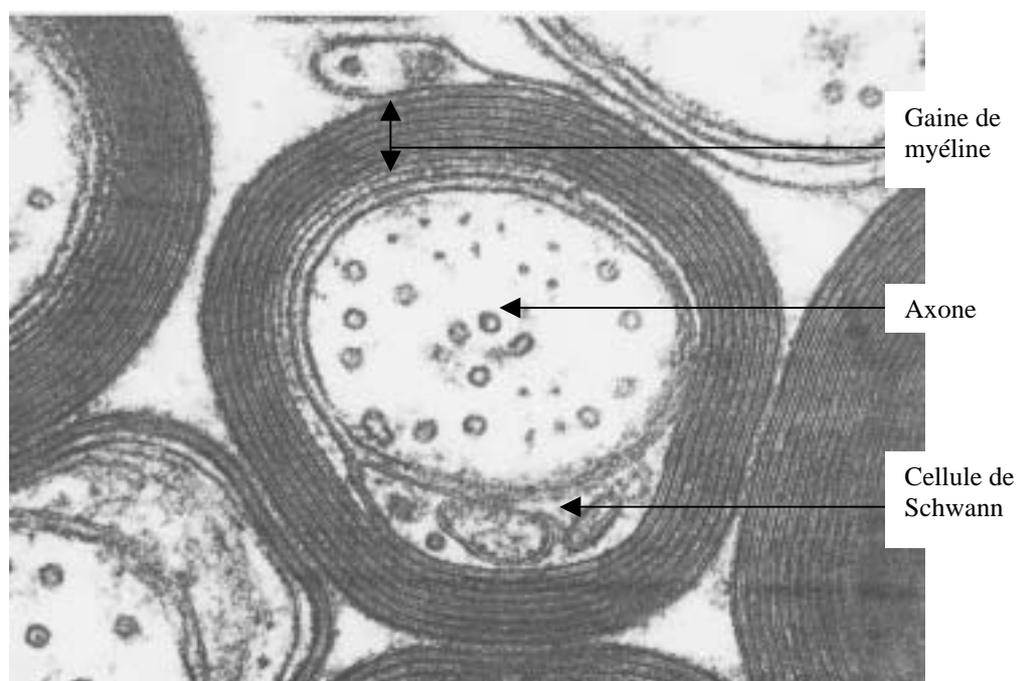


Figure 3: Photo de la section d'une fibre myélinisée vue au microscope électronique, d'après SIEGEL (75)

Les cellules de Schwann assurent de plus:

- un rôle nutritif vis à vis de l'axone : on a démontré qu'elles sont source d'un facteur trophique ou d'un facteur nutritif qui n'a cependant pas encore été identifié (47).

- un rôle macrophagique au début de la dégénérescence wallérienne. Elles sont en effet capables de séquestrer du matériel axoplasmique (36). De plus, dès le troisième jour suivant une lésion, on peut identifier dans leur cytoplasme des débris myéliniques de forme et de taille variées qui implique également l'existence d'une propriété d'autophagie.
- un rôle de synthèse des nombreuses fibrilles de collagène qui envahissent la cicatrice et les espaces endoneuraux lors de lésion.

I.1.2.3 La membrane basale

Elle entoure les cellules de Schwann, les fibres de collagène et les fibres réticulaires qui forment le « squelette » de l'axone. Cette membrane enveloppe la fibre nerveuse sur toute sa longueur. Elle est préservée au cours de la dégénérescence wallérienne mais peut rétrécir ou bien être envahie par des fibres de collagène si la ré-innervation n'intervient pas au delà de quatre mois (57). D'après De MEDINACELI (25), sa résistance combinée avec son rôle de guide lors de la repousse axonale suffit à expliquer les différences de régénération observées. La destruction de cette structure suite à une lésion nerveuse, compromet fortement d'après lui la récupération fonctionnelle. Du reste, la présence ou l'absence de membrane basale lors de traumatisme est à l'origine de la classification lésionnelle de SUNDERLAND.

I.1.3 Éléments de neurobiologie cellulaire

I.1.3.1 Le transport axonal

Le passage de l'information du corps cellulaire à l'extrémité de l'axone, et vice versa, se fait grâce à un transport axonal très organisé découvert en 1943 par WIESS et HISCOE (60).

Il existe trois types de transport :

- Le transport antérograde lent véhicule du centre vers la périphérie les substances nécessaires à l'entretien de l'axoplasme et au squelette de l'axone. Il s'agit par exemple, des protéines solubles, des neurofilaments, de tubuline et d'actine. Une partie de ces substances est utilisée au cours du transport. Ce flux est permis par un micro-péristaltisme de la membrane du neurone (75),(80). D'après BONNARD (8), sa vitesse est de 1 à 2 mm par jour, mais chez le rat, MIRA (60) donne des vitesses allant de 1 à 5 mm/j. Cette vitesse conditionne la vitesse de repousse de l'axone qui régénère.

- Le transport antérograde rapide véhicule dans le même sens les enzymes nécessaires à la neurotransmission au niveau de la synapse et des composants membranaires comme des phospholipides, des glycoprotéines ou des lipoprotéines qui se déposent tout au long de l'axolème. Ce transport fait intervenir les microtubules de l'axoplasme (80). Sa vitesse est de 200 à 400 mm par jour selon BONNARD (8). Ici, MIRA (60) donne toujours chez le rat, des valeurs allant de 150 à 400 mm/j.
- Le transport rétrograde (150 à 300 mm par jour) véhicule de la périphérie au centre : les produits du métabolisme de la neurotransmission qui vont être recyclés par le neurone, diverses substances qui renseignent le neurone sur l'état de sa périphérie (les facteurs neurotrophiques, des substances exogènes qui envahissent l'axone lorsqu'il y a lésion ou des substances endogènes destinées à la périphérie qui reviennent plus vite que prévu et non métabolisées en cas d'interruption de l'axone), des substances pathogènes tels virus de la rage, le VZV (8), des traceurs employés en neurobiologie (HRP, true blue...).

I.1.3.2 La conduction nerveuse – Le rôle des cellules de Schwann

La conduction nerveuse se fait à des vitesses différentes selon la nature des fibres nerveuses qu'elle emprunte.

On a vu précédemment qu'il existe deux sortes de fibres constituant le système nerveux périphérique : les fibres myélinisées et les fibres amyéliniques. La présence de cette gaine de myéline améliore de façon très importante la vitesse de conduction de l'influx nerveux.

En effet, dans les fibres amyéliniques, la propagation du message nerveux se fait par une dépolarisation de la membrane de l'axone, de proche en proche, sur toute la longueur de la fibre; alors que dans les fibres myélinisées, l'influx est conduit de façon saltatoire, c'est à dire qu'il « saute » de nœud de Ranvier en nœud de Ranvier. La myéline est en effet un très bon isolant et, les neurones ne sont en contact avec le milieu extérieur qu'au niveau des nœuds de Ranvier (77). Ces étranglements sont les seuls endroits où apparaissent des courants locaux (70). L'espace entre ces nœuds est variable, on observe des valeurs allant de 0,6 à 1,6 mm chez le lapin sur le nerf sciatique (21).

Dans une fibre amyélinique, la vitesse de conduction est proportionnelle à la racine carrée du diamètre de la fibre, alors que dans une fibre myélinisée, la vitesse de conduction est proportionnelle au diamètre de la fibre (75).

I.1.3.3 Données sur la vitesse de repousse axonale

Après section axonale et dégénérescence wallérienne, la vitesse de régénération dépend du type de lésion subie par la fibre.

On recense les résultats suivants (10, 58, 66, 80):

- entre 2 et 5 mm/jour après écrasement
- entre 1 et 4 mm/jour après section
- entre 4,06 et 4,18 mm/jour après congélation localisée

La nature des fibres touchées influence également la vitesse de repousse. Les résultats trouvés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Type de lésion Nature de fibre	Ecrasement	Section
Fibres sensibles	de 2,0 à 4,8 mm/jour	de 1,5 à 3,5 mm/jour
Fibres motrices	de 2,8 à 4,4 mm/jour	de 1,3 à 2,3 mm/jour

Tableau 1: Vitesses de régénération observables chez le rat en fonction du type de fibre lésée et de la nature de la lésion (60)

La repousse est dépendante de la vitesse de transport des matériaux nécessaires à la croissance.

Il apparaît que cette croissance est plus rapide dans la zone proximale et plus lente dans les zones distales.

Il existe toutefois un temps de latence au début de la régénération (80). La durée de cette latence varie d'une part avec la sévérité et le niveau de la lésion. Plus cette dernière est proche du corps cellulaire, plus les perturbations rétrogrades et le temps de récupération sont importants. Elle varie d'autre part avec le type de neurone ; les neurones sensitifs étant affectés plus rapidement et plus gravement que les neurones moteurs.

Ainsi, on observe que cette pause peut durer de quelques heures à une quinzaine de jours si la continuité du nerf n'est pas affectée, alors qu'elle peut atteindre plusieurs mois après section ou arrachement (60).

La vitesse de régénération est donc influencée par la nature de la lésion, la distance entre l'extrémité axonale et le corps cellulaire, le type et le calibre de la fibre considérée, l'âge et l'espèce de l'animal ainsi que différents facteurs physiques ou chimiques comme entre autres, la température.

II RAPPELS ANATOMIQUES DU PLEXUS BRACHIAL

II.1 Constitution du plexus brachial

Le plexus brachial est la formation anatomique issue du regroupement des rameaux ventraux provenant des nerfs spinaux correspondants aux derniers segments cervicaux et aux premiers thoraciques, l'intumescence cervicale. Les nerfs spinaux sont constitués par la fusion des racines ventrales et dorsales, elles-mêmes formées à partir de radicules. Ces dernières émergent de la moelle épinière en région dorso-latérale (radicules dorsales) ou ventro-latérale (radicules ventrales) (33). La racine ventrale, motrice, contient les axones dont le corps cellulaire se trouve dans la substance grise médullaire. La racine dorsale, sensitive, contient les dendrites des neurones dont le corps cellulaire est localisé dans le ganglion spinal situé en regard du foramen vertébral. Le nerf spinal se divise en quatre rameaux : le rameau méningé, le rameau communiquant sympathique, le rameau dorsal moteur et sensitif pour la partie dorsale de l'encolure, le rameau ventral, moteur et sensitif pour le plexus brachial. Chez le chien, les racines C5 à T2 peuvent participer à cette formation. Il existe un certain nombre de variations individuelles concernant l'inclusion de C5 et T2. Selon ALLAM (1), la répartition des différentes compositions du plexus brachial du chien est la suivante :

Racines participant au plexus brachial	Pourcentage
C6 C7 C8 T1	58,6 %
C5 C6 C7 C8 T1	20,7 %
C6 C7 C8 T1 T2	17,2 %
C5 C6 C7 C8 T1 T2	3,4 %

Tableau 2: Répartition des racines participant à la composition du plexus brachial du chien (d'après 1)

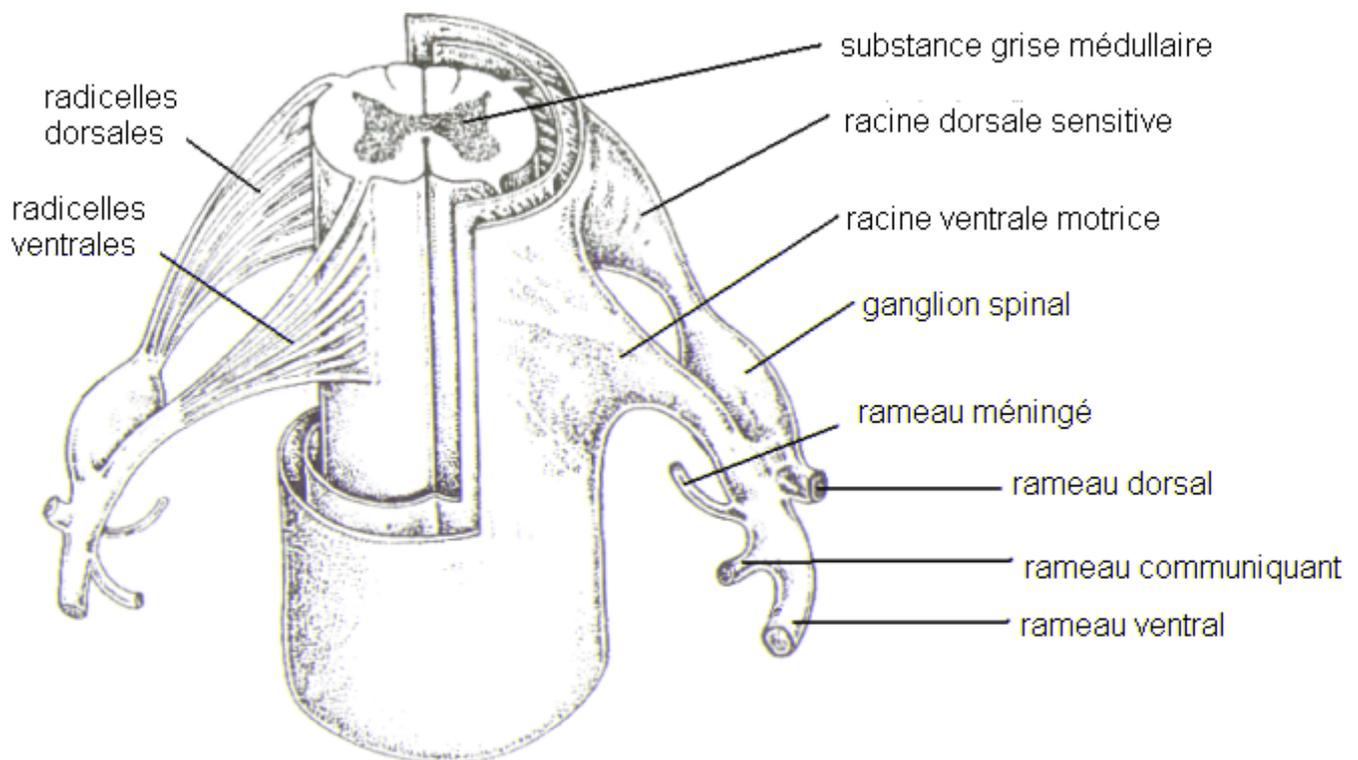


Figure 4: Constitution d'un nerf spinal (d'après 61)

II.2 Anatomie descriptive du plexus brachial :

Le plexus brachial forme un amas nerveux volumineux situé ventro-latéralement au rachis. Il se place d'abord entre le muscle long du cou et les muscles scalènes, puis entre les deux chefs de ce dernier et finit au dessus des vaisseaux axillaires, en avant de la première côte.

Le plexus brachial fournit quelques nerfs du thorax et la totalité de ceux du membre antérieur. Crânio-caudalement, on trouve les nerfs brachio-céphalique, pectoraux, supra-scapulaire, sub-scapulaire, musculo-cutané, axillaire, radial, médian, ulnaire, thoraco-dorsal, thoracique latéral (2).

La connaissance de l'origine, de la distribution et de la fonction des nerfs périphériques est indispensable, aussi bien en clinique, pour établir le diagnostic de leur atteinte, qu'en théorie, pour définir notre protocole expérimental.

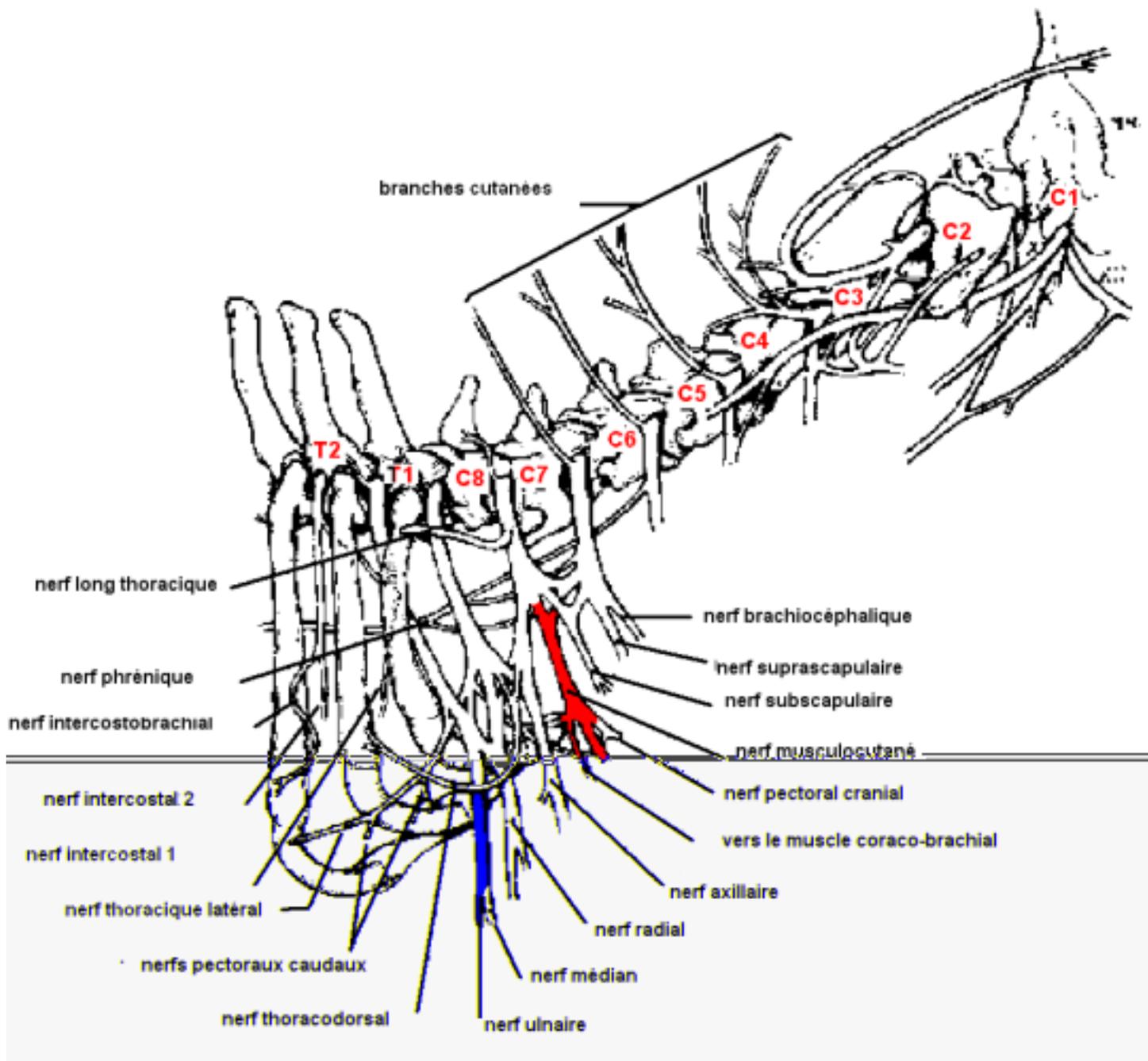


Figure 5: Vue d'ensemble du plexus brachial droit du chien (d'après 2)

II.3 Distribution des nerfs issus du plexus brachial

- nerf brachio-céphalique :
Issu de C6 et C7, il est moteur pour le muscle du même nom et sensitif pour une partie de la peau de l'encolure.

- nerfs pectoraux :
Le nerf pectoral crânial est issu de C7 et C8 (parfois C6 (21)), il innerve le muscle pectoral superficiel. Le nerf pectoral caudal est issu de C8, T1 parfois T2 et innerve le muscle pectoral profond.

- nerf supra-scapulaire :
Issu de C6 et C7, il se distribue au muscle sous et sus épineux (33).

- nerf sub-scapulaire :
Issu de C6 et C7, il innerve la plus grande partie du muscle sous-scapulaire.

- nerf musculocutané :
Issu de C6, C7 et C8, il innerve le muscle coraco-brachial et surtout le muscle biceps brachial et le muscle brachial avant de rejoindre le nerf médian par la branche communicante. Il devient ensuite sensitif. Selon Piermattei (12), il émettrait une branche distale motrice vers le muscle biceps brachial, branche qui n'a jamais été retrouvée lors de nos dissections. Il s'agit là d'un des nerfs que nous avons choisi pour notre étude.

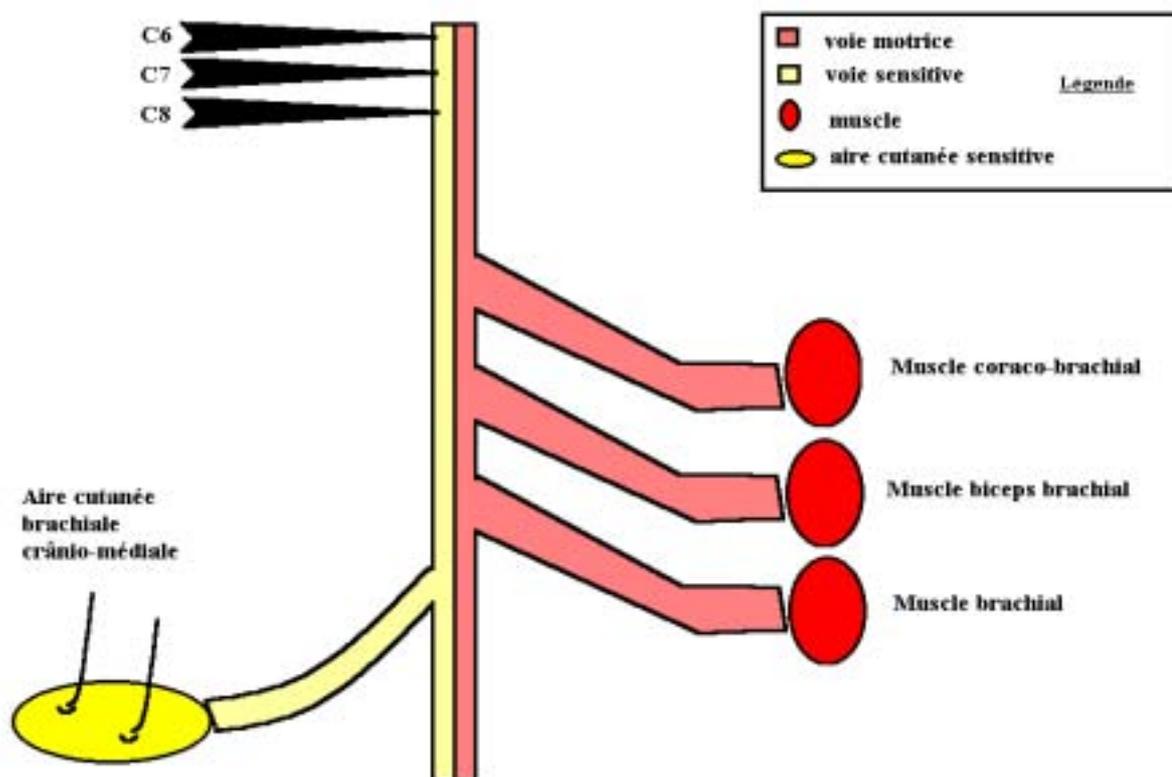


Figure 6: Représentation schématique de la distribution du nerf musculo-cutané

- nerf axillaire :

Issu de C7 et C8 , il est moteur pour les muscles de l'épaule : muscles petit et grand rond, muscle deltoïde, chef caudal du muscle sous-scapulaire. Il est sensitif grâce au nerf cutané antébrachial caudal pour la région cranio-latérale du bras.

- nerf radial :

Issu de C7 à T2 (T1 pour Guetty (40)), il court en face interne de l'humérus qu'il croise par l'arrière au tiers distal de sa diaphyse. Il est moteur pour les muscles extenseurs de l'avant-bras (muscle triceps brachial) et du carpe (muscles extenseur radial du carpe, ulnaire latéral) et sensitif pour la face latérale de l'avant bras.

- nerf médian :

Issu de C8 à T2, il reçoit une branche sensitive du nerf musculocutané au tiers distal de l'humérus. Il est moteur pour les muscles rond et carré pronateur, fléchisseur radial du carpe et fléchisseur superficiel et profond des doigts.

- nerf ulnaire :
Issu de C8 à T1, il est moteur pour les muscles fléchisseurs ulnaire du carpe, profond des doigts et interosseux. Il est sensitif pour le doigt V.
- nerf thoracodorsal :
Issu de C8 et T1, il plonge dans le muscle grand dorsal après l'avoir longé médialement.
- nerf long thoracique :
Issu de C7 et C8, il innerve le muscle dentelé ventral du thorax.
- nerf thoracique latéral :
Issu de C8 et T1, il s'associe au nerf pectoral caudal et innerve le muscle cutané du tronc.

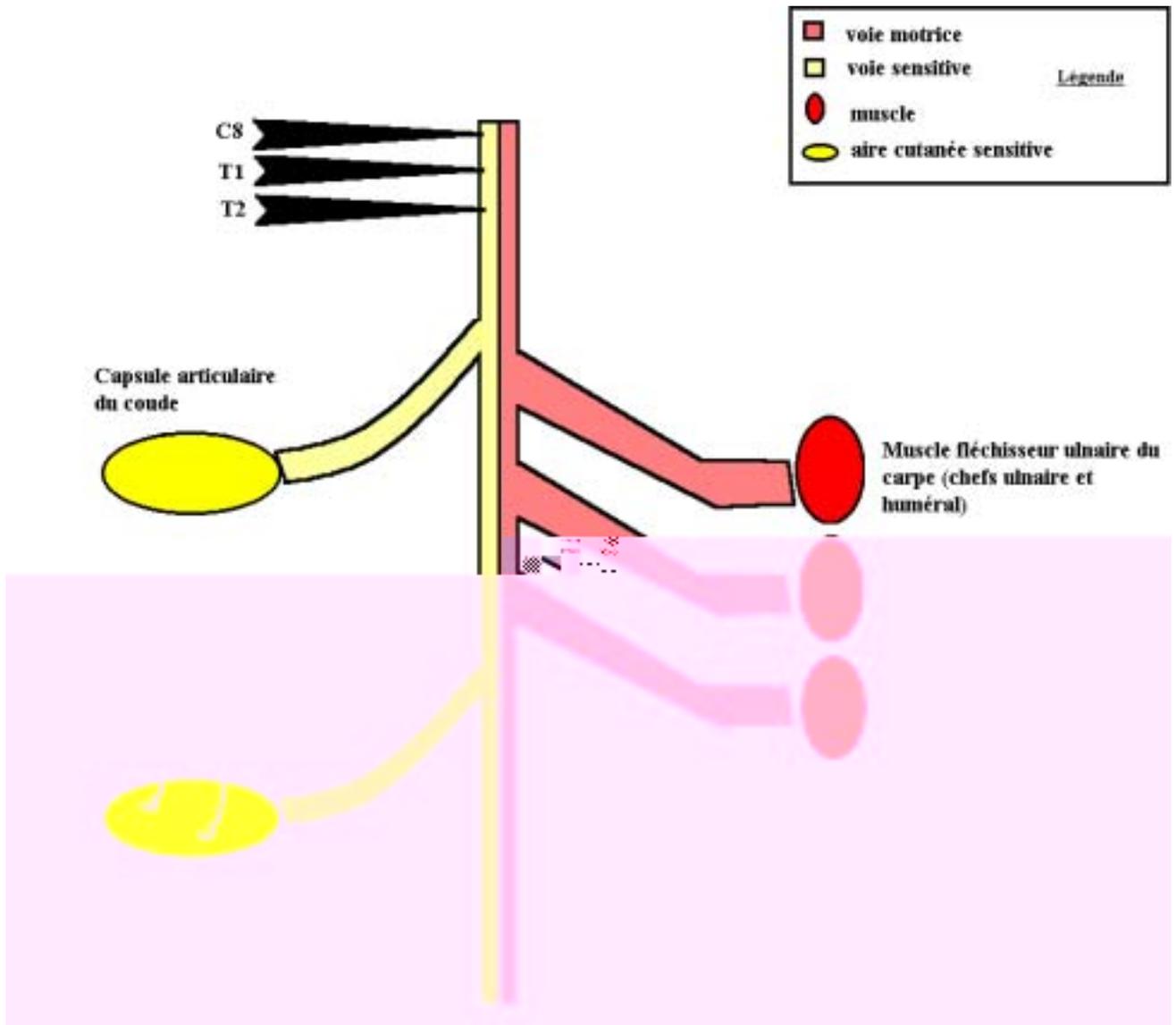


Figure 7 : Représentation schématique de la distribution du nerf ulnaire

II.4 Fonction des nerfs du plexus brachial

Tous les nerfs présentés dans le paragraphe précédent sont moteurs, certains seulement sont sensitifs. Ici seront résumés les rôles sous forme de tableaux.

II.4.1 Fonction motrice

Le tableau ci-dessous résume les fonctions motrices des différents nerfs issus du plexus brachial.

NERF	RACINES	MUSCLES INNERVES
n.brachiocéphalique	C6 C7	m. brachiocéphalique
n. pectoral cranial	(C6) C7 C8	m. pectoral superficiel
n. pectoral caudal	C8 T1 (T2)	m. pectoral profond
n. suprascapulaire	C6 C7	m. sous-épineux m. sus-épineux
n. subscapulaire	C6 C7	m. sous-scapulaire (sauf faisceau caudal)
n. musculocutané	C6 C7 C8	m. coracobrachial m. biceps brachial m. brachial
n. axillaire	(C6) C7 C8	m. petit rond m. grand rond m. deltoïde (chefs spinal et acromial) m. subscapulaire (faisceau caudal) m. brachio céphalique (partie caudale)
n. radial	C7 C8 T1 (T2)	m. triceps brachial (tous les chefs) m. tenseur du fascia antebrachial m. anconé m. brachioradial m. extenseur radial du carpe m. extenseur commun des doigts m. extenseur latéral des doigts

		m. ulnaire latéral m. abducteur du pouce m. extenseur propre de l'index
n. médian	C8 T1 T2	m. rond pronateur m. carré pronateur m. fléchisseur radial du carpe m. fléchisseur superficiel des doigts m. fléchisseur profond des doigts (chef radial et huméral)
n. ulnaire	C8 T1 T2	m. fléchisseur ulnaire du carpe (chef ulnaire et huméral) m. fléchisseur profond des doigts (chef ulnaire et huméral) m. interosseux
n. thoracodorsal	C8	m. grand dorsal
n. long thoracique	C7 C8	m. dentelé ventral du thorax
n. thoracique latéral	C8 T1	m. pectoral profond m. cutané du tronc

Tableau 3: Rôle moteur des nerfs du plexus brachial

II.4.2 Fonction sensitive

Tous les nerfs issus du plexus brachial ne donnent pas de branches sensitives cutanées. Seuls les nerfs brachio-céphalique, axillaire, radial, médian, ulnaire en possèdent une (14).

NERF SENSITIF	ORIGINE		AIRE CUTANEE
Branche cutanée dorsale de C6	C6		Bord dorsal et cranial de la scapula
Branche cutanée dorsale de T1	T1		Aire cutanée très réduite, non testable
Branche cutanée dorsale de T2	T2		Aire cutanée très réduite, non testable
Branche cutanée ventrale de C5	C5		Faces latérale et médiale de la scapula
Branche cutanée du nerf brachio-céphalique	n. brachio-céphalique		Faces latérale, craniale et médiale du bras
Nerf brachial cutané cranio-latéral	n. axillaire		Face latérale du bras, face médiale de l'avant bras (pas de zone autonome)
Branche cutanée latérale du nerf thoracique T2 et T3	T2 T3		Zone intercostale
Nerf cutané antebrachial latéral	n. radial	Branche latérale	Face latérale de l'avant-bras, dorsale de l'avant –bras et des doigts
		Branche médiale	Face cranio-médiale de l'avant-bras et des doigts
Nerf cutané antebrachial médial	n. musculocutané		Face palmaire de l'avant bras et du carpe
Branche cutanée du rameau communicant du nerf musculo-cutané	n. musculocutané		Face palmaire du membre (pas de zone autonome)
Branche palmaire du nerf médian	n. médian		Face palmaire du membre (pas de zone autonome)
Nerf cutané antebrachial caudal	n. ulnaire		Face palmaire et latérale de l'avant bras et des doigts (doigt V)

Tableau 4: Rôle sensitif des nerfs du plexus brachial

II.4.3 Participation au système sympathique :

Le rôle sympathique des racines du plexus concerne la motricité irienne et la vasomotricité artérielle.

Le plus important est le premier ; en effet, la voie orthosympathique comporte trois neurones : le premier connecte le noyau prétectal et le centre cilio-spinal situé dans la substance grise de la moelle entre C8 et T3. De là, part le deuxième neurone qui rejoint la chaîne sympathique paravertébrale puis le ganglion cervical crânial où se situe le corps cellulaire du troisième neurone. Ce dernier émet un axone en direction des muscles irido-moteurs par un trajet partagé avec le nerf VII. Une lésion de ce système engendre un ensemble de symptômes (myosis, ptose palpébrale, diminution des sécrétions lacrymales) regroupés sous le nom de syndrome de Claude Bernard-Horner. L'arrachement des radicelles de C8 à T3 occasionne une lésion du deuxième neurone à l'origine d'un syndrome de Claude Bernard-Horner.

Enfin, les nerfs du plexus brachial, par le rôle sur la vasomotricité sont responsables du trophisme de l'ensemble des masses musculaires du membre antérieur.

II.5 Comparaison avec le plexus brachial de l'homme

Chez l'homme, les racines participant au plexus sont C5 C6, C7, C8 et T1 (D1 (comme Dorsale 1) dans la nomenclature humaine habituelle). C4 ou T2 s'ajoute selon les cas.

La différence majeure entre le plexus brachial du chien et celui de l'homme se situe dans les moyens de fixation des entre les racines du plexus et les vertèbres. Il existe des ligaments transverso-radicaux entre les racines C5, C6 et C7 et les processus transverses des vertèbres correspondantes. La présence de ceux-ci explique la plus grande résistance mécanique à l'arrachement et le fait que chez l'homme les avulsions (cf infra) des racines inférieures (distales à cette attache) sont plus fréquentes que celles des racines supérieures (proximales). Elles peuvent alors subir une migration extraforaminale, c'est-à-dire en dehors des espaces intertransversaires.

III PATHOGENIE ET CLASSIFICATION DES LESIONS

III.1 Circonstances d'apparition des lésions traumatiques chez le chien

De par sa localisation, le plexus brachial est une entité anatomique bien protégée, ses lésions sont donc plutôt rares et se produisent lors de traumatismes violents. Le plus souvent, il s'agit des accidents de la voie publique qui occasionnent une hyper-extension forcée accompagnée fréquemment d'une abduction de membre. Ensuite, arrivent les chutes avec abduction du membre, et enfin les plaies par empalement, par objet tranchant ou par arme à feu.

III.2 Classification des lésions

Tous les éléments constituant le plexus brachial peuvent être le siège de lésions élémentaires affectant un nerf périphérique. Nous allons décrire ces lésions selon les différentes classifications de Seddon et Sunderland. La lésion du plexus brachial est quant à elle la somme de l'ensemble de ces lésions élémentaires.

II.2.1 Classification de SEDDON (d'après 64)

La classification des lésions des nerfs périphériques utilisée couramment en clinique est celle de SEDDON. Elle décompose les lésions en trois groupes de gravité croissante. Les critères sont d'ordre anatomo-pathologique, ils s'intéressent aux structures fines du nerf lésées.

- NEURAPRAXIE

La neurapraxie représente un bloc de conduction sans lésion du neurone proprement dit. Il existe cependant une lésion de la gaine de myéline. Il n'y a pas de dégénérescence wallérienne distalement à la lésion. La récupération totale est de règle en quelques jours à quelques semaines; elle est souvent brutale, à la levée du bloc de conduction.

- AXONOTMESIS

L'axonotmésis représente une lésion de l'axone lui-même, qui est rompu. La fibre nerveuse peut être endommagée mais le périnèvre et l'épinèvre ne sont pas lésés. Distalement, la fibre nerveuse subit une dégénérescence wallérienne. La récupération est

encore la règle mais elle est beaucoup plus longue car elle nécessite une repousse axonale. Celle-ci se fait d'ordinaire assez facilement car la continuité des fibres est conservée.

- NEUROTOMESIS

Le neurotmesis est la plus grave des lésions nerveuses périphériques dans cette classification : elle représente une lésion de l'ensemble du nerf avec rupture des axones et des faisceaux. L'épinèvre peut parfois rester continu. Quoiqu'il en soit, la repousse ne peut se faire correctement et il y a formation d'un névrome, sans réinnervation. L'absence de récupération spontanée est la règle.

III.2.2 Classification de SUNDERLAND(d'après 64)

Cette classification repose sur celle de SEDDON et l'affine. Elle prend en compte d'une part une structure anatomique supplémentaire, la membrane basale de la fibre nerveuse et d'autre part les processus cicatriciels des fibres et faisceaux.. Elle permet de donner une explication anatomo-pathologique, au fait que tous les axonotmesis ne récupèrent pas de manière identique. Elle détermine cinq degrés de gravité croissante.

- PREMIER DEGRE

Il correspond totalement à la neurapraxie de SEDDON.

- DEUXIEME DEGRE

Il s'agit d'une rupture axonale sans lésion de la membrane basale de la fibre nerveuse. Aucune erreur de parcours ne peut se produire lors de la repousse axonale. Le premier bourgeon de réinnervation se ramifie et les autres s'atrophient. La récupération est totale.

- TROISIEME DEGRE

L'axone est rompu et la membrane basale est lésée. Le fascicule nerveux est le siège d'un processus cicatriciel nettement plus important qui désorganise la repousse axonale et provoque des « erreurs d'aiguillage » des bourgeons de repousse. Des fibres s'échangent entre les fascicules et la récupération fonctionnelle n'est que partielle.

- QUATRIEME DEGRE

Aux lésions précédentes s'ajoute la rupture du périnèvre. La séquelle cicatricielle des tissus non nerveux perturbent encore plus gravement la repousse et les faisceaux sont désorganisés. La récupération ne peut être que partielle et est parfois aberrante.

- CINQUIEME DEGRE

Toutes les structures sont rompues et la guérison est illusoire car la cicatrice fibreuse et la désorganisation des bourgeons mènent au névrome.

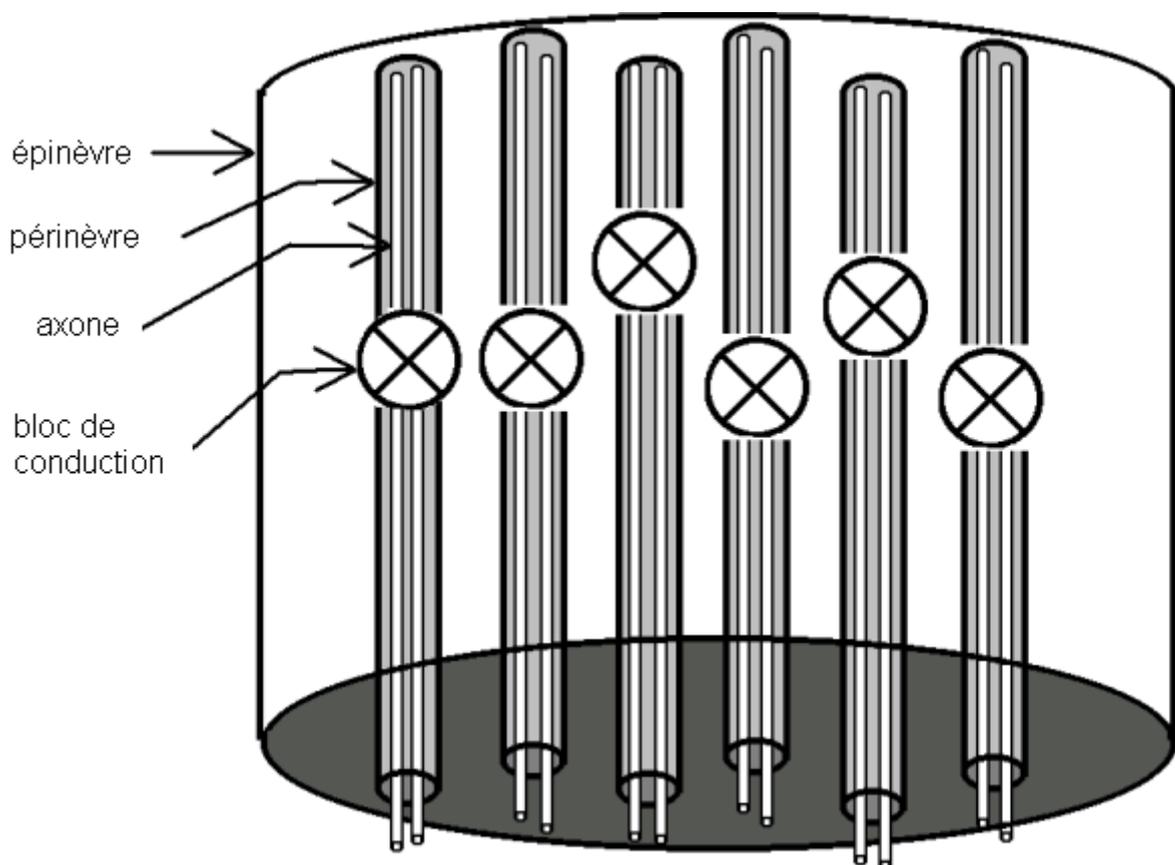


Figure 8 : Lésion de type 1 selon la classification de SUNDERLAND

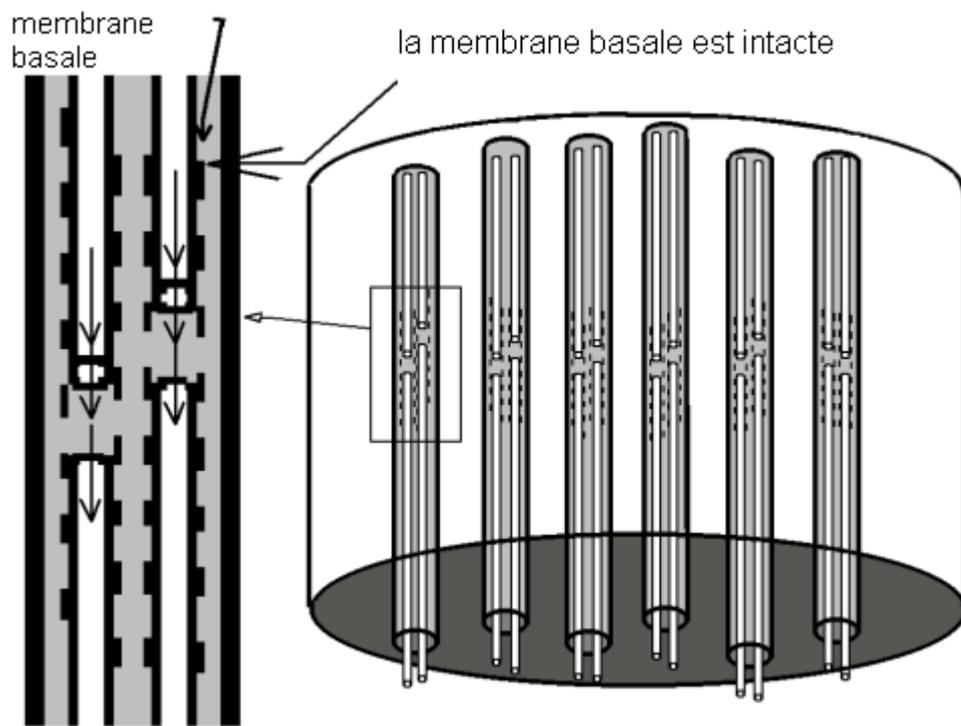


Figure 9 : lésion de type 2 dans la classification de SUNDERLAND

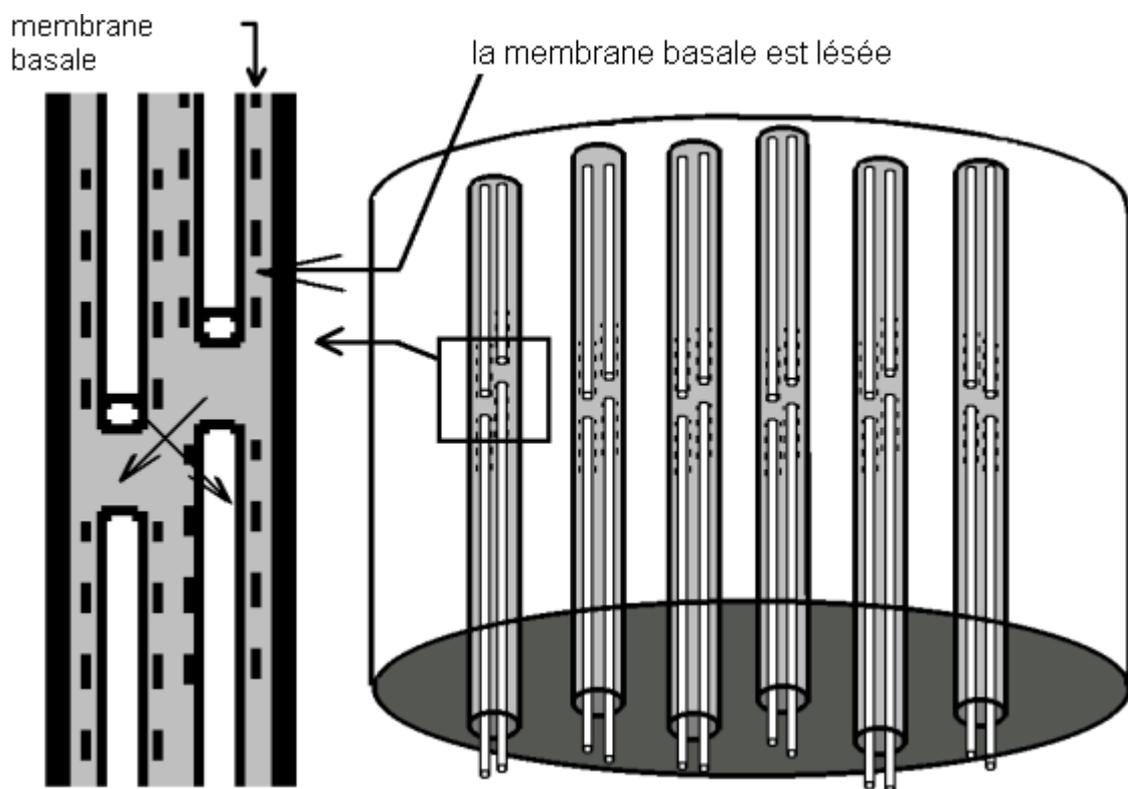


Figure 10 : lésion de type 3 selon la classification de SUNDERLAND

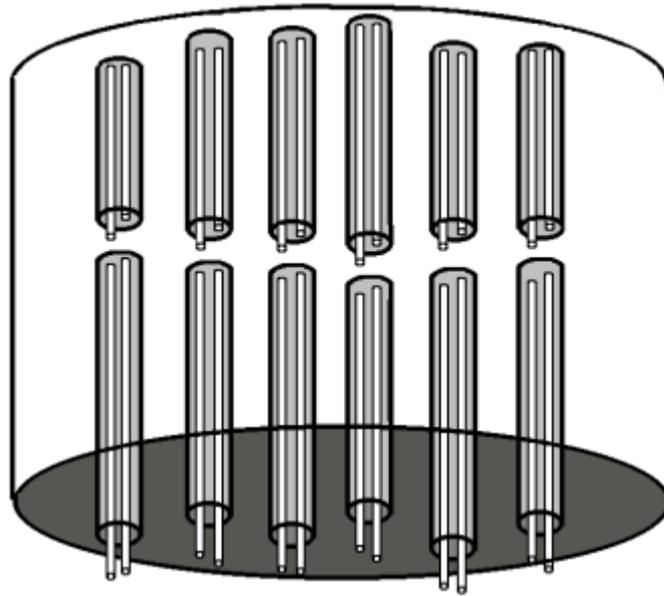


Figure 11 : lésion de type 4 selon la classification de SUNDERLAND

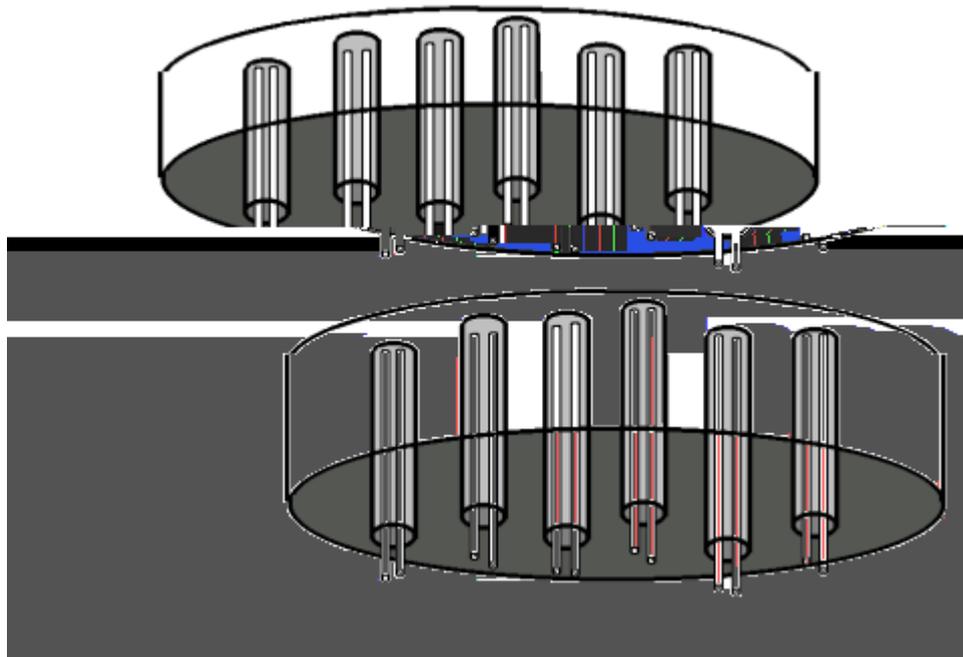


Figure 12 : lésion de type 5 selon la classification de SUNDERLAND

III.2.3 Avulsions et lésions radiculaires

L'avulsion représente l'arrachement d'une racine médullaire. On peut distinguer deux types de lésions. Lors de l'avulsion dite périphérique, il se produit une lésion du cône dural et la

formation d'un méningocoele. L'avulsion dite centrale correspond à un arrachement des radicelles, sans lésion durale, mais avec un traumatisme médullaire plus important.

Une lésion vasculaire accompagne cet arrachement (artère radulaire) et des corps cellulaires peuvent être directement lésés. Il s'agit donc là plus d'une lésion du système nerveux central et la régénération ne peut se faire. Les possibilités de récupération spontanée sont nulles.

IV DIAGNOSTIC DES LESIONS DU PLEXUS BRACHIAL

IV.1 Diagnostic clinique

Les lésions traumatiques du plexus brachial s'expriment le plus souvent dans le cadre d'un accident de la voie publique, chez un animal polytraumatisé. Les symptômes sont variables, en fonction de la partie du plexus incriminée : dans le cas le plus sévère, celui de l'avulsion, ce sont en tous cas des paralysies et des anesthésies de territoires cutanés, plus ou moins étendues.

IV.1.1 Examen orthopédique

Face à une atteinte d'un membre antérieur, diverses hypothèses peuvent être établies. L'examen orthopédique, réalisé dans le cadre du bilan des lésions de l'animal polytraumatisé, exclut les autres causes de boiterie. La perte de fonction motrice permet d'observer une boiterie dont les caractéristiques mécaniques sont les suivantes : une absence d'extension du carpe et du coude, avec un membre tombant et un animal marchant sur le dos de la main, évoquant une paralysie du nerf radial, lorsque la lésion intéresse la partie caudale du plexus (des lésions des nerfs ulnaire et médian sont alors souvent associées) ; une perte d'extension de l'épaule et une subluxation latérale de l'épaule lorsque la lésion du plexus est plus crâniale.

IV.1.2 Examen neurologique

C'est la partie de l'examen clinique qui confirme et localise l'atteinte du plexus brachial. Il s'agit typiquement d'une atteinte du motoneurone périphérique focalisée sur plusieurs nerfs (plurineuropathie plexuelle).

- Motricité

Les muscles concernés par les nerfs lésés connaissent une paralysie flasque (lorsque l'atteinte est complète). Si la lésion est de type avulsion avec lésion médullaire, des troubles de type motoneurone central peuvent être, très exceptionnellement, relevés sur le membre postérieur homolatéral.

- Sensibilité

Les dermatomes anesthésiés permettent de cerner l'étendue des lésion

- Trophicité

Les muscles dénervés s'atrophient rapidement ; cela est déjà observable en une semaine.

- Réflexes

Les réflexes de flexion, extension du carpe et tricipital disparaissent avec vî9.s;

Nerf lésé	Racines	Muscles atrophiés	Symptômes locomoteurs
Suprascapulaire	C6-C7	Supraépineux Infraépineux	Perte d'extension de l'épaule Epine scapulaire proéminente Subluxation latérale de l'épaule
Musculocutané	C6-C7- C8	Biceps brachial Brachial Coracobrachial	Réduction de la flexion du coude Perte du réflexe de flexion du coude Diminution de la sensibilité superficielle en région médiale de l'avant bras
Axillaire	C7-C8	Deltoïde Petit rond Grand rond	Réduction de la flexion de l'épaule
Radial	C7-C8- T1	Triceps brachial Extenseurs du carpe	Réduction de l'extension du coude du carpe et des doigts Absence de poussée des extenseurs Perte du réflexe tricipital Diminution de la sensibilité en région dorsale de l'avant-bras
Médian	C8-T1	Fléchisseur radial du carpe Fléchisseurs des doigts	Réduction de la flexion du carpe et des doigts Diminution de la sensibilité de la face palmaire des doigts
Ulnaire	C8-T1	Fléchisseur ulnaire du carpe Fléchisseur profond des doigts	Réduction de la flexion du carpe et des doigts Diminution de la sensibilité superficielle en région caudo-latérale de l'avant-bras

Tableau 5: Troubles moteurs, trophiques et sensitifs associés aux lésions des nerfs du plexus brachial

IV.2 Examens complémentaires

L'examen clinique permet de confirmer l'atteinte neurologique du membre et en partie la localisation de la lésion. Il ne permet en aucun cas de définir le type de lésion, et donc le pronostic, car les symptômes sont identiques en début d'évolution.

IV.2.1 Examen électrophysiologique

Il s'agit de l'examen de choix pour explorer une lésion de type motoneurone périphérique. L'électromyographie permet de repérer les muscles dénervés, l'électroneurographie permet le plus souvent de qualifier les lésions selon la classification SEDDON.

L'examen électromyographique étudie l'activité électrique des muscles. Une activité dite d'insertion s'observe à l'introduction des électrodes, elle n'est pas pathologique. En revanche, une activité dite spontanée ou de fibrillation est détectée lors de neuropathie axonale. Cette fibrillation musculaire apparaît six à dix jours après la lésion. Cependant, la fibrose musculaire diminue l'activité d'insertion, et il vaut mieux ne pas trop attendre (7).

Il est intéressant d'évaluer également les muscles paravertébraux, dont la dénervation évoque une lésion proximale à la dichotomie entre les rameaux ventral et dorsal (82).

L'examen électroneurographique consiste en une stimulation électrique du nerf (enregistrement du potentiel d'action musculaire dans les muscles cibles) ou d'un territoire cutané (enregistrement à proximité du nerf sensitif correspondant). Il est ainsi possible de contrôler l'existence d'une conduction et d'évaluer sa vitesse. Lors de suspicion d'atteinte proximale ou radiculaire, l'étude de l'onde F (potentiel qui survient après la réponse musculaire directe et qui correspond à la stimulation antidromique des motoneurones alpha) et du réflexe H (la stimulation des fibres la provenant des fuseaux neuromusculaires déclenche une réponse réflexe dans le muscle correspondant) permet de localiser le site de la lésion sur cet axe réflexe.

IV.2.2 Examen myélographique

Elle ne présente que peu d'intérêt sauf si l'on suspecte une compression médullaire sur le segment C6-T2 provoquant une symptomatologie de type motoneurone périphérique sur un antérieur suite à un traumatisme (il existe dans ce cas une lésion type motoneurone central du postérieur).

En outre, la présence d'un méningocoele, permet de conclure à une avulsion de type périphérique des racines concernées lorsque l'examen est précoce (avant cicatrisation de la plaie méningée).

Si la ponction de liquide céphalorachidien lors de la myélographie révèle une hématorachie, une avulsion radiculaire accompagnée de l'avulsion de l'artère radiculaire doit être suspectée.

IV.2.3 Imagerie par résonance magnétique

Il s'agit d'un moyen non invasif, très peu utilisé en médecine vétérinaire permettant d'explorer les avulsions radiculaires. Cette méthode d'investigation est amenée à se développer.

V EVOLUTION SPONTANEE ET POSSIBILITES THERAPEUTIQUES

V.1 Evolution spontanée :

Suite à une lésion, des changements importants interviennent au sein du nerf et tendent à restaurer la conduction du potentiel d'action.

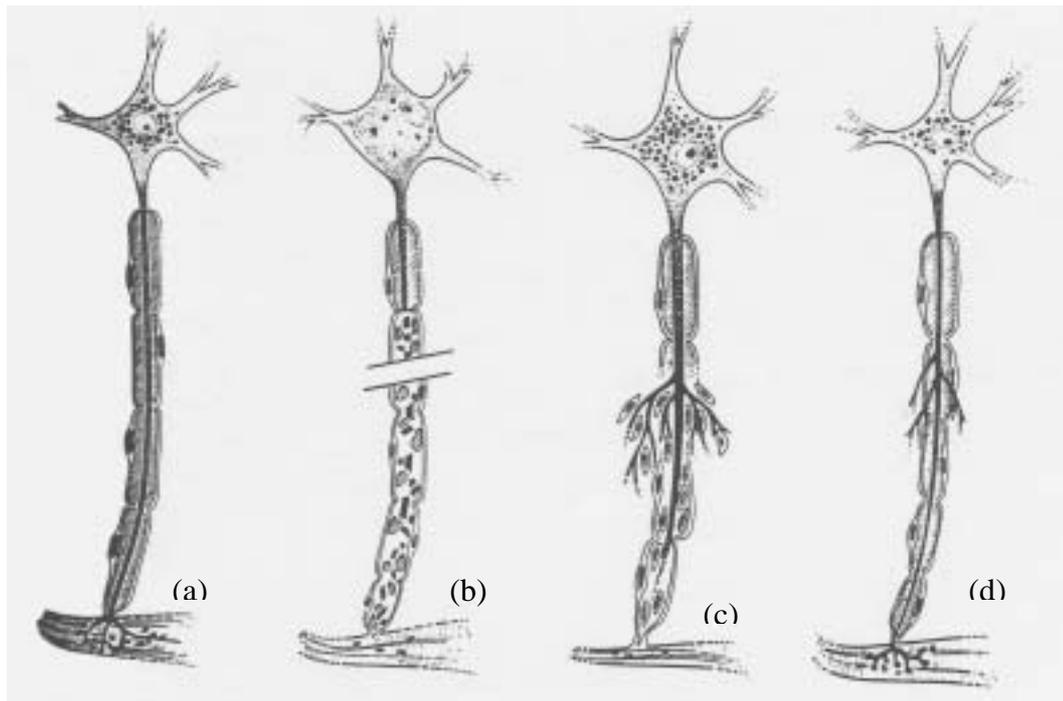


Figure 13: Dégénérescence Wallérienne - Repousse axonale (63)

(a) : Fibre nerveuse intacte ; (b) : Dégénérescence wallérienne après lésion
(c) : Bourgeonnement axonal ; (d) : Tube endoneural recolonisé création d'une nouvelle gaine de myéline.

V.1.1 Modification du corps cellulaire

Brutalement, le métabolisme du neurone est tourné intégralement vers la synthèse de protéines de structure de l'axoplasme et de structure de paroi. Le corps cellulaire gonfle, le noyau est refoulé en périphérie ainsi que les corps de Nissl. Cette réaction est connue sous le nom de « chromatolyse » (60).

V.1.2 Modification du transport axonal

Le corps neuronal est le site principal de synthèse des protéines et d'autres matériels requis pour la repousse axonale.

En cas d'axotomie, le transport rétrograde est privilégié par rapport aux autres.

Les matériels distribués normalement au-delà du site de lésion retournent rapidement au corps cellulaire, cela assure la fourniture au corps neuronal des substances nécessaires aux synthèses des protéines et autres matériels requis pour la repousse (59).

Une lésion trop proche du corps cellulaire risquera donc de compromettre sérieusement les possibilités de survie du neurone (8), (60).

V.1.3 Développement d'unités régénératives par le segment proximal

Il faut presque une semaine pour que les modifications métaboliques se traduisent concrètement par une repousse de l'axone. Chez le chat, KRARUP ne décrit le début de la régénération qu'à partir du huitième jour suivant la lésion (48).

La lésion entraîne la dégénérescence du segment proximal vers l'amont. Celle-ci progresse sur une distance variable selon la gravité de la lésion en laissant un tube endoneural vide à l'image d'un cylindre qui contient alors principalement la lame basale avec des cellules de Schwann.

Dans les lésions qui ne provoquent pas la rupture des gaines de tissu conjonctif, les altérations traumatiques ne s'étendent pas sur une grande distance et n'affectent que le ou les premiers entre-nœuds soit 1 à 2 mm.

Dans les lésions qui entraînent une interruption de la continuité du nerf, les altérations sont manifestes sur une distance beaucoup plus importante soit de 2 à 4 mm.

Ces modifications sont très comparables à la dégénérescence wallérienne présente au niveau du segment distal mais sont réversibles (60).

On observe une activité mitotique intense des cellules de Schwann à l'intérieur de la lame basale dès 24 heures après la lésion. Elle atteint son maximum 3 jours après la lésion et diminue progressivement au cours des semaines qui suivent. Cette prolifération est à l'origine de la formation de « sortes » de cordons cellulaires appelés bandes de Büngner dont on notera l'importance au cours de la repousse axonale. Cependant, ces bandes ne peuvent persister

qu'un temps limité en cas de dénervation. Le nombre de cellules de Schwann diminue peu à peu et laissent place à des fibroblastes et des cellules périphériques. Après un an, les fascicules ne contiennent plus que du collagène et des fibres d'élastine (72).

Dès le premier jour, de nombreuses repousses collatérales (bourgeoisement collatéral) et terminales (bourgeoisement terminal) naissent à partir des axones du segment proximal du nerf. Ces nouveaux prolongements axonaux naissent des nœuds de Ranvier où les axones sont restés intacts, elles progressent le long du tube Schwannien formé de la lame basale intérieurement tapissée de nombreuses cellules de Schwann. Les cellules de Schwann édifieront autour de l'axone régénéré une nouvelle gaine de myéline et joueront à la fois un rôle de guide et un rôle trophique aidant ainsi les repousses axonales à gagner leur cible. Le phénomène progresse vers l'extrémité distale. Il peut encore être observé quatre semaines après la lésion (59).

Tous les bourgeons axonaux émis par la même fibre se développent à l'intérieur du tube formé par l'ancienne basale non détruite. Ils forment un « faisceau de régénération ». Les axones sont d'abord « nus », puis sont peu à peu enveloppés par les cellules de Schwann. En microscopie électronique, on observe certains points où les membranes des cellules de Schwann et de l'axone ont fusionné. DEZAWA présume que ces jonctions sont immatures et temporaires et que leur rôle est de faciliter les interactions de l'axone avec les cellules de Schwann (30).

Vers le cinquième jour, de nouvelles basales se forment au contact de la membrane plasmique des cellules de Schwann et cloisonnent la lumière du tube de l'ancienne basale. Ainsi, au sixième jour, chaque cellule de Schwann, contenant un ou plusieurs axones, est isolée des autres par une basale qui lui est propre. L'ancienne basale commence à se désintégrer à la fin de la troisième semaine (59).

Dès qu'un des axones qui régénère établit un contact avec sa cible, un signal est transmis au corps cellulaire. Le bourgeoisement s'arrête. La plupart des repousses qui n'ont pas eu de connexion périphérique disparaissent progressivement. L'énergie métabolique est alors concentrée sur la maturation de la fibre ayant atteint sa cible. L'arrivée des axones amorce une deuxième vague de mitoses des cellules de Schwann et une augmentation des facteurs de croissance nerveuse (8), (60), (72). Le nombre d'axone atteignant leur cible n'est pas un facteur limitant de la récupération, d'après FINKELSTEIN, 5% des axones moteurs sont suffisants (34).

Des travaux réalisés par LUNDBORG, POLITIS, MACKINNON et d'autres témoignent de l'existence d'une spécificité tissulaire (3), (72). De même, BRUSHART (13) a constaté au cours de ses travaux que les motoneurones ré-innervent préférentiellement les branches motrices et

ce même si la réparation est intentionnellement mal alignée ou s'il persiste un écart séparant les deux bouts nerveux.

Cette réparation est induite et stimulée par des facteurs de croissance. Ainsi, les cellules de Schwann produisent le Nerve Growth Factor (NGF) : facteur de croissance nerveuse qui induit l'élongation axonale (60), l'Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) , le Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF) et le Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) qui lui, protège les axones lésés de la dégénérescence rétrograde (17).

On compte également le Leukemia Inhibitory Factor (LIF) et le Glial Cell Derived Neurotrophic Factor (GDNF) connu pour réduire les pertes de substance des motoneurons lors de lésion nerveuse chez le rat adulte.

Ces facteurs ont un effet marqué sur les axones régénérants.

Il existe encore deux familles de facteurs de croissance à citer:

- *les neurotrophines*. Ces protéines sont connues pour leur action biologique démontrée sur les cellules du système nerveux. Elles favorisent la survie des neurones et la croissance des neurites pendant le développement. Elles peuvent aussi stimuler la régénération des neurones lésés chez l'adulte.

- *les facteurs de croissance des fibroblastes*. Ces facteurs contribuent largement à stimuler la régénération cellulaire et la cicatrisation (61). Les FGF exercent leur action trophique sur la plupart des cellules nerveuses. Par exemple, l'injection de b-FGF a permis d'augmenter la régénération axonale du nerf sciatique sectionné. Ce facteur est connu comme un facteur neurotrophique. Son action a été démontrée histologiquement par DANIELSEN (1988) et AEBISCHER (1989). Sur leurs modèles, ils ont trouvé que les cellules de Schwann et les macrophages pouvaient sécréter le b-FGF ou le NGF (17), (72).

La régénération axonale n'est cependant possible que si les deux extrémités restent dans le prolongement l'une de l'autre et ne sont séparées que par une distance limitée. En effet, une perte de substance supérieure ou égale à 15 mm reste d'un pronostic défavorable sans une intervention extérieure (3). Les axones repoussent mais ne peuvent pénétrer dans les tubes Schwanniens, ils forment une masse enchevêtrée (névrome traumatique) tandis que les cellules de Schwann prolifèrent mais de façon désordonnée, au niveau du segment distal formant un gliome.

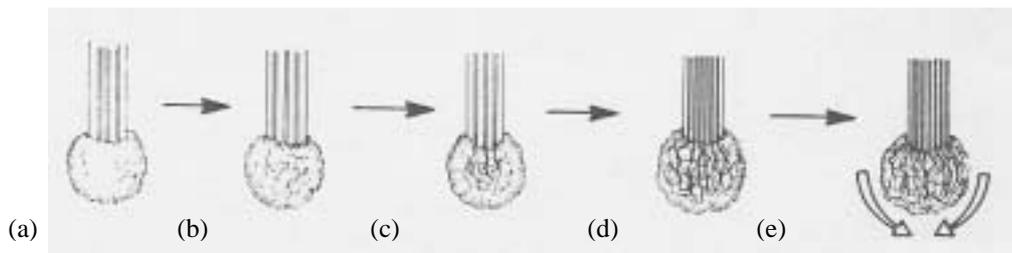


Figure 14: Formation d'un neurome, d'après SWAIM (80)

- a : Formation d'un caillot sanguin ; b : organisation du caillot, ; c : prolifération de cellules de Schwann;
- d : croissance des axones guidés par les cellules de Schwann, prolifération de tissu conjonctif ;
- e : croissance périphérique de tissu conjonctif bloquant la croissance axonale.

V.1.4 Dégénérescence wallérienne du segment distal

Après la lésion axonale, l'axoplasme est profondément désorganisé, des modifications structurales et métaboliques surviennent rapidement dans le segment distal. Ces modifications se déroulent progressivement de façon centrifuge, de la lésion vers la périphérie. Elles intéressent les axones lésés, les gaines de myéline, les cellules de Schwann ainsi que le collagène endoneural. Les axones du segment distal ont perdu les connexions avec leur corps cellulaire, ils ne pourront donc plus maintenir leur intégrité fonctionnelle et structurale.

Ces modifications varient avec le type de fibre. En effet : les fibres sensibles dégénèrent plus vite que les fibres motrices et les fibres de petite taille dégénèrent plus vite que celles de grand diamètre (60).

Plus la lésion est proche du corps cellulaire, plus l'axone contient de réserves métaboliques abondantes et plus longue est sa survie.

On distingue deux phases dans ces modifications :

- Le blocage de la conduction
- La fragmentation de l'axone et de sa myéline.

Le maintien de l'intégrité des fibres nerveuses est stimulé par un facteur neurotrophique qui bloque les potentialités lytiques des cellules de Schwann. Ce facteur est synthétisé par le corps cellulaire et chemine le long de l'axone. A la suite de la lésion, il est donc logique de voir sa concentration diminuer progressivement depuis la zone lésée vers l'extrémité distale. Lorsque celle-ci chute au-dessous d'une valeur critique, les cellules de Schwann deviennent métaboliquement actives (60).

Dès la première heure, les neurotubules et les neurofilaments disparaissent.

La dégénérescence débute par une phase initiale d'œdème. Puis, pendant la première semaine, les axones et les gaines de myéline de l'extrémité distale subissent une fragmentation. Elle touche d'abord les fibres de petit diamètre à la vitesse de 250 mm/jour, puis lorsqu'elles sont toutes fragmentées, vient le tour des grosses fibres à la vitesse de 50 mm/jour. Pendant les 7 à 15 jours suivants, les débris sont incorporés et dégradés chimiquement dans des vacuoles autophagiques des cellules de Schwann qui seront ensuite phagocytées par des macrophages d'origine sanguine. Ainsi, la disparition de la myéline, au niveau de la zone lésée ainsi que sur toute l'extrémité distale débute dès le deuxième jour dans les petites fibres et dès le troisième jour dans les plus grosses (59).

La dénervation du segment distal provoque une augmentation progressive de la teneur en collagène. Un changement de la distribution de celui-ci se manifeste au niveau de l'endonèvre et du périnèvre. Il se forme une gaine épaissie en dehors de la membrane basale des cellules de Schwann.

La production de ce collagène endoneural provient à la fois de l'activité des fibroblastes et des cellules de Schwann (72).

Une seconde phase de prolifération des cellules de Schwann a lieu durant la phase régénérative. Ces mitoses se produisent auprès des axones régénérés, conduits par les bandes de Büngner, et les cellules de Schwann procèdent à la formation de la myéline. Ce phénomène traduit l'importance des cellules de Schwann au cours de la repousse axonale où elles aident les repousses axonales à gagner leur cible (76).

V.1.5 La mort cellulaire

Dans le cas de lésions trop sévères ou trop proches du corps cellulaire, le maintien de l'intégrité axonale est impossible. La lésion entraîne donc la mort de la cellule nerveuse (3, 60).

Ainsi, après avulsion radiculaire du plexus brachial, de nombreux motoneurones dégénèrent au sein de la moelle épinière.

V.1.6 Les résultats de la repousse axonale

On pourra employer le terme de régénération fonctionnelle, si l'activité du nerf régénéré est comparable à ce qu'elle était avant la lésion. Une orientation parfaite des fibres ne peut être obtenue que si les basales schwanniennes sont conservées intactes. En effet, la rupture de la basale permettrait à certains axones régénérant de s'échapper.

- Nombre de fibres dans les nerfs régénérés

Chez la souris, un mois après écrasement, le nombre d'axones myélinisés est redevenu normal. Plus tard, le nombre d'axones devient supérieur à celui trouvé au niveau du nerf sain, ceci s'expliquant peut-être par le phénomène de collatéralisation. Quant aux fibres amyéliniques, à un mois, elles sont en nombre inférieur à celui trouvé du côté sain. Le retour à la normale se fera longtemps après pouvant aller jusqu'à un an.

De plus, les fibres amyéliniques sont capables de former des branches collatérales et de ré-innervent des organes cibles dénervés dans un territoire adjacent. Ceci ne serait pas le cas des fibres α -motrices qui ne réinnervent pas des muscles adjacents mais ne se connecteraient que sur des aires d'un muscle qu'elle l'a et celles sont en nombre inférieur à ce qu'elle était avant.

- Evolution de la distance inter-nodale

D'après CRAGG (21), la régénération n'est pas accompagnée par une récupération de la distance inter-nodale. Elle reste inférieure à celle d'un nerf normal. Pour les plus grosses fibres elle peut être réduite jusqu'à 50% de sa valeur initiale.

Elle semble être la même quel que soit le calibre de la fibre concernée (environ 300µm) (60).

- Vitesse de conduction de l'influx nerveux

Après lésion, CRAGG constate que la vitesse de l'influx nerveux est significativement inférieure à celle observée sur un nerf sain. L'écart est d'environ 25% et ce même 16 mois après lésion (21). Cette observation peut être expliquée par les modifications de la distance internodale schwannienne.

Après compression, FUGLEHOLM a enregistré les vitesses de conduction sur des nerfs régénérants après plusieurs sortes de lésions. La première vitesse enregistrable sur ces nerfs varie entre 0,5 et 2 m/s le long du segment qui régénère. Elle atteint 10 à 15 m/s lorsque les axones ont atteint le muscle (35).

V.2 Traitement médical

En présence d'une avulsion du plexus brachial, le traumatisme est proche de la moelle épinière ou intervient au sein même du système nerveux central. On peut donc tenter d'en limiter les effets en lui appliquant les mêmes principes que lors de lésion aiguë du système nerveux central. Dans le cadre de l'urgence, la corticothérapie à base de méthyl-prednisolone à 30 mg/kg puis deux fois 15 mg/kg à 6 heures d'intervalle est indiquée.

On ne peut espérer un bénéfice d'un traitement médical qu'en cas de lésion avec un espoir de repousse (axonotmésis). Certains principes actifs ont alors pour rôle de stimuler cette dernière :

- l'isaxomine stimule le bourgeonnement axonal mais est trop hépato-toxique (31)
- les facteurs de croissance sont en cours d'expérimentation (Neurotrophic Growth Factor, Ciliary Neurotrophic Factor, NeuroTrophin 3...)

V.3 Traitement chirurgical

V.3.1 Traitement curatif

Le chirurgien dispose essentiellement de deux techniques qui s'appliquent à deux cas différents.

- suture nerveuse :

Cette possibilité est rare, compte-tenu de la faible fréquence des sections nerveuses sans avulsion radiculaire. Lorsqu'un nerf est sectionné, il est possible de suturer les faisceaux en suturant épi et/ou périnèvre. Cela relève de la microchirurgie et des erreurs d'alignement peuvent se produire. Ces dernières ne sont pas rédhibitoires pour la récupération fonctionnelle.

- la neurolyse :

Il s'agit de la libération des structures nerveuses du tissu, en général cicatriciel, qui les comprime (c'est donc un terme abusif). Cela n'a d'intérêt que si la continuité du nerf est conservée et si la lésion est compressive (par exemple, cicatrisation après hématome).

V.3.2 Traitement palliatif

- neurotisation

Le principe de cette technique est d'obtenir la recolonisation du fragment nerveux distal à une lésion par des nerfs moteurs situés à proximité. On espère alors que les bourgeons axonaux du segment proximal anastomosé vont coloniser les gaines du nerf lésé. L'utilisation des nerfs intercostaux est la plus fréquemment utilisée (45) . Cependant, de nombreuses techniques sont décrites chez l'homme ou chez l'animal d'expérimentation, en fonction des nerfs transférés et de la technique d'anastomose (mixte, purement motrice ou sensitive et motrice, directement sur le muscle cible)(9).

- traitement orthopédique

Diverses solutions sont proposées :

- La transplantation tendineuse consiste, dans le cas de paralysie du radial, à employer les tendons des fléchisseurs du carpe pour remplacer la fonction des extenseurs : cela n'est possible qu'en cas de lésion isolée de ce nerf.

- L'arthrodèse du carpe permet de limiter lors de lésion distale du nerf radial les blessures de la face dorsale de la main. Cela est parfois insuffisant (lésions des phalanges distales persistantes).
- L'amputation du membre reste souvent la solution envisagée en fonction de la motivation des propriétaires, du coût engendré par les soins et parfois de la méconnaissance des possibilités thérapeutiques de la part du clinicien.

Rapport-Gratuit.com

VI AXES ACTUELS DE RECHERCHE PRESENTANT DES PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES

VI.1 Amélioration de la repousse axonale

VI.1.1 Etude de la physiologie neuronale

La connaissance de la repousse axonale n'est pas encore complète car les paramètres qui la régissent sont très nombreux (44).

Le rôle des cellules de Schwann et de la membrane basale ne sont pas encore parfaitement élucidés et font l'objet de nombreuses publications. Leurs relations avec l'axone en repousse semblent très étroites (29) et leur réponse aux facteurs de croissance mal connue (83). L'adhésion du bourgeon à ces structures oriente la repousse (44). Les molécules responsables de l'adhésion (issues de la famille des immunoglobulines telle que N-CAM, L et P0 ou dérivées de la cadhérine) guide la progression de l'axone dans la colonne de cellules de Schwann après la dégénérescence wallérienne.

Plusieurs facteurs de croissance (spécifiques ou non) sont identifiés. Malheureusement, leur rôle n'est pas toujours très clair et ils représentent un axe de recherche très attractif. Certains sont connus depuis longtemps comme le Nerve Growth Factor (NGF), le Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF), le Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF) ou le Fibroblast Growth Factor (FGF) ; d'autres de découverte plus récente comme les neurotrophines (NT-3 ou NT-4) font l'objet de nombreuses expérimentations. (41, 51, 74, 83). La connaissance de leur action cellulaire laisse supposer que de nombreuses découvertes restent à faire (par exemple, le NGF peut à la fois promouvoir la survie neuronale par l'activation du récepteur TrkA ou la mort neuronale par celle de p75^{NTR} (27)). D'autre part, la culture de moto-neurones matures isolés reste impossible malgré l'ajout de plusieurs facteurs de croissance (BDNF, CNTF, FGF2, GDNF, IGF I, IGF II, NT3, NT4, TGF- β) dont l'action bénéfique sur la repousse in-vivo est démontrée (68).

VI.1.2 Stimulation de la repousse

L'utilisation de facteurs de croissance pour améliorer expérimentalement la repousse est maintenant une pratique courante. Ils peuvent être utilisés seuls ou en association (74, 83).

La dose idéale, la meilleure manière de les utiliser ne sont pas définies. Des essais de « réservoirs » implantés in vivo ont été réalisés (74) ; ils ont mis en évidence l'intérêt d'une libération progressive et durable mais semblent difficilement utilisables en clinique.

Les progrès de la thérapie génique paraissent très prometteurs dans le cadre d'une utilisation en supplémentation. L'adjonction d'un vecteur produisant localement un facteur de croissance a apporté un bénéfice à la repousse (41). Des cellules modifiées génétiquement permettent également la complémentation en dopamine chez le rat parkinsonien (71). Malgré de nombreuses difficultés techniques (production des vecteurs, réaction immunitaire du receveur), ces méthodes semblent porteuses de grands espoirs.

VI.2 Amélioration des techniques chirurgicales

Dans le cadre des lésions par section ou des neurotisations utilisées en traitement des avulsions, la suture nerveuse est actuellement devenue une pratique bien codifiée. Elle permet de suturer les deux extrémités d'un nerf sectionné. Quelques nouvelles techniques sont cependant décrites comme la neuroraphie latéro-latérale par exemple (85).

Toutefois, les pertes de substances interfragmentaires demeurent un problème insoluble par les techniques classiques. Il existe deux manières en cours de validation qui sont les greffes nerveuses et les tubes synthétiques sensés guider la repousse.

Les greffes peuvent être des autogreffes (elles nécessitent alors le sacrifice d'un nerf périphérique considéré comme accessoire du patient lui-même) ou des allogreffes soumises aux phénomènes de rejet. Ce sont ces dernières qui sont actuellement les plus documentées. Le sujet principal de préoccupation est le maintien du greffon chez le receveur. Divers protocoles utilisant des molécules à action immunosuppressive sont décrits.(53)

Les tubes de polymères permettent de guider le cône de croissance nerveux vers l'about distal. Diverses molécules les composent (silicone(81),collagène(84), Acide Polyglycolique(PGA)(46, 55), alginate (79)). Elles diffèrent par leur perméabilité aux facteurs extracellulaires et par leur capacité à être résorbées. Lors de l'usage de ces dispositifs, des facteurs de croissance sont parfois ajoutés (74). La taille de la perte de substance a d'abord été une limite à leur utilisation mais une étude a montré qu'il était possible de combler un défaut de 80 mm ! (tube de PGA rempli de fibre de collagène couvertes de laminine (55)).

Dans le cadre du traitement des avulsions, la réimplantation radiculaire pour traiter les avulsions existe mais reste du domaine purement expérimental (49,50, 62).

CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

L'exposé des connaissances des lésions du plexus brachial a mis en évidence la complexité des paramètres influençant la récupération fonctionnelle.

L'intérêt d'accélérer et d'améliorer la repousse axonale est majeur. D'une part, il paraît évident que pour le confort du patient, une récupération précoce est préférable. D'autre part, qu'il s'agisse du traitement des lésions d'axonotmesis, de neurotmesis (avec ou sans tube de recolonisation), ou d'avulsion traitée par neurotisation, une augmentation de la vitesse de repousse évite d'avoir recours à des soins complexes trop longtemps.

La thérapie génique s'annonce comme une possibilité future très séduisante d'apporter *in situ* des facteurs de croissance permettant d'optimiser la repousse axonale.

Notre étude se propose de relier ces différents éléments: après une lésion d'axonotmesis expérimental, nous nous intéresserons à l'influence sur la repousse axonale de la neurotrophine 3 canine vectorisée par un adénovirus.

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE

I MATERIEL ET METHODES

I.1 Matériel

I.1.1 Matériel animal

Quinze chiens de race Beagle ont été utilisés pour cette étude. Le ratio des sexes est de huit femelles pour sept mâles. Il s'agit de jeunes adultes âgés de 2 à 5 ans. Ils ont reçu les protocoles de vaccination classiques (maladie de Carré, Parvovirose, Hépatite de Rubarth, Leptospirose et Rage).

Trois groupes ont été créés par tirage au sort. Tous les animaux ont subi un écrasement des nerfs musculo-cutané et ulnaire d'un même membre (le gauche). Pour reproduire une lésion d'axonotmesis, nous avons utilisé une méthode d'écrasement telle que décrite par CHEN (16) . Les individus du premier groupe ont reçu en plus des injections musculaires et nerveuses d'adénovirus recombinant codant pour la neurotrophine 3 canine (5 chiens), ceux du deuxième groupe des injections d'adénovirus non recombinant (5 chiens), et ceux du troisième des injections de sérum physiologique (5 chiens).

Lot	Traitement après axonotmesis	rôle
L1	Injection d'adénovirus recombinant	Lot test
L2	Injection d'adénovirus	Lot témoin adénovirus
L3	Injection de liquide physiologique	Lot témoin injection sous périneurale et musculaire

Tableau 6 : définition des lots et de leur fonction

Chaque animal a donc un membre sain témoin et un membre opéré.

Il existe deux types d'animaux témoins : les témoins adénovirus et les témoins simples. Cette solution a été retenue car aucune donnée n'existe en ce qui concerne d'une part l'influence des adénovirus sur la repousse nerveuse et d'autre part sur la vitesse de repousse axonale chez le chien après une lésion d'axonotmesis par écrasement ; on peut estimer cette dernière entre 3 et 4 mm par jour par extrapolation de données murines (69).

I.1.2 Matériel de transfert génétique

Il a été préparé dans le laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort (laboratoire associé INRA)(32).

I.1.2.1 **matériel viral**

L'adénovirus utilisé dans cette étude est un adénovirus humain de type 5 de première génération, délété en E1 et E3.

La région E1 étant la première exprimée au cours du cycle lytique, son expression conditionne celle des autres gènes précoces; la délétion de E1 garantit donc l'absence de réplication de l'adénovirus recombinant. Cette région est ainsi utilisée pour l'insertion du gène NT 3. La région E3 est normalement responsable de la diminution des défenses de l'hôte.(28)

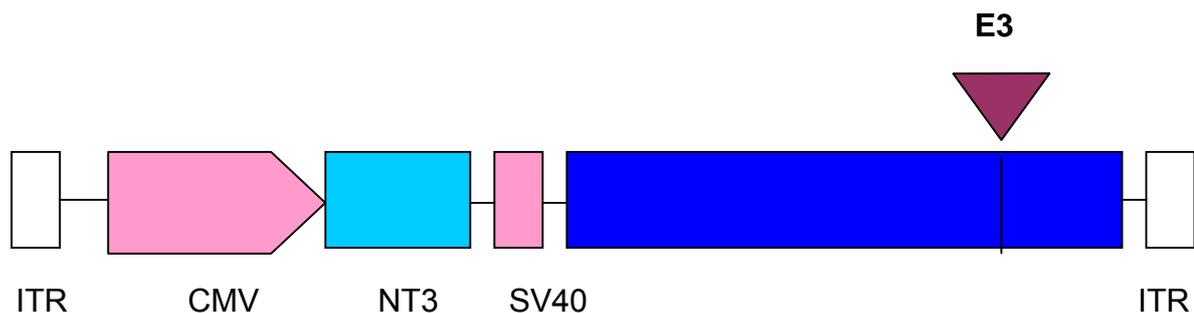


Figure 15 : adénovirus recombinant avec gène NT3 (adapté de 28)

La région E1 est substituée par l'ADN exogène, qui contient la séquence régulatrice et codante, est composée d'un promoteur dérivé du cytomégalovirus humain (CMV) suivi d'une séquence codante pour la NT3 canine en phase à son extrémité N-terminale avec le signal de localisation nucléaire de l'antigène T de SV40 et enfin d'une séquence de polyadénylation précoce de SV40.

I.1.2.2 protéine recombinante

I.1.2.2.1 *la neurotrophine 3*

Le facteur de croissance nerveux utilisé dans cette étude appartient à la famille des neurotrophines, dérivées du NGF (Nerve Growth Factor). Cette famille comprend 5 représentants : NGF, BDNF, NT-3, NT-4/5 ou NT-4 et NT-6. (83). Ces protéines sont impliquées dans la survie neuronale et le guidage des axones périphériques en croissance (5). Elles jouent également un rôle dans le recrutement des cellules de Schwann (en particulier après une lésion neurologique) et dans le cycle de la myéline. La structure de ces molécules est assez bien connue (surtout pour NGF qui est formée de 2 sous-unités de 118 résidus). Ces protéines sont très conservées chez les Mammifères (47 résidus communs aux 4 neurotrophines mammaliennes (NT-6 a été découverte chez un Téléostéen)) (5). Deux types de récepteurs sont identifiés, ceux à forte affinité, les Trk et celui à faible affinité, le P75^{NTR}. La transduction du signal se fait à travers la Trk C pour NT-3 et active la phospholipase C. Le rôle de P75^{NTR} est mal élucidé : il module l'activité des kinases mais peut induire l'apoptose sur les neurones n'exprimant pas de Trk(27).

I.1.2.2.2 *isolement du gène codant pour NT-3*

La neurotrophine 3 (NT-3) et les gènes qui la codent ne sont pas décrits précisément jusqu'ici chez le chien. En revanche, ils sont connus chez l'homme, la souris ou le poulet. Ils sont disponibles dans les banques de données génétiques. Les séquençages nous permettent de remarquer la nette conservation de cette protéine dans le monde animal.

Les gènes codant dans les différentes espèces étant proches, des séquences de début et de fin, très conservées, ont été isolées. Elles ont servi de séquences d'amorce PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Ainsi, une PCR à l'aide de ces amorces utilisées sur ADN de chien permet d'isoler le gène codant pour la neurotrophine 3 canine.

I.1.2.2.3 *incorporation du gène codant pour NT-3 canine*

Depuis le premier adénovirus recombinant construit dans les années 80, la technologie a évolué et désormais les génomes recombinants sont obtenus dans *E. Coli* par recombinaison

homologue. Cette méthode décrite par Chartier en 1996 fait intervenir 2 molécules d'ADN plasmidiques: le plasmide de transfert et le plasmide adénovirus.

Le premier ou plasmide de transfert contient l'ADN exogène borné de séquences adénovirales, dites de recombinaison, qui délimitent le site d'insertion dans le génome viral. L'ADN exogène est le plus souvent constitué par un promoteur (ici le promoteur du gène IE du cytomégalo virus humain ou CMV), un cadre ouvert de lecture ou gène (ici la phase codante de la NT3 canine) et un signal de fin de transcription ou polyadénylation (ici le polyA de SV40).

Le plasmide adénovirus correspond à la base génomique du futur virus recombinant (ici Ad5 délété en E1 et E3).

Le fragment de recombinaison est clivé du plasmide de transfert par action d'une ou plusieurs endonucléase(s) de restriction (ici *PacI*), et ne contient plus que les séquences impliquées dans le processus de recombinaison (ADN exogène et séquences de recombinaison).

Le plasmide adénovirus est linéarisé par clivage enzymatique (ici *Clal*) au site d'insertion; lors de la construction des outils nécessaires à la recombinaison homologue un site enzymatique unique a été créé afin d'ouvrir la molécule au site d'insertion dans le génome.

Des bactéries, capables de supporter des événements de recombinaison (ici la souche BJ5183 de génotype *recBC sbcBC*), sont transformées par un mélange de fragment de recombinaison purifié et de plasmide adénovirus linéarisé.

La molécule recombinante est sélectionnée sur gélose-antibiotique, en effet seule, en théorie, la molécule de plasmide adénovirus qui aura été circularisée par un double événement de recombinaison impliquant le fragment issu du plasmide de transfert donnera lieu à une colonie bactérienne résistante à l'antibiotique. L'ADN de ces colonies bactériennes est amplifié et la structure du génome recombinant vérifiée par digestion enzymatique : ce dernier est alors prêt à être transfecté dans la lignée cellulaire de production (ici la lignée humaine 293) afin de générer des particules virales recombinantes.

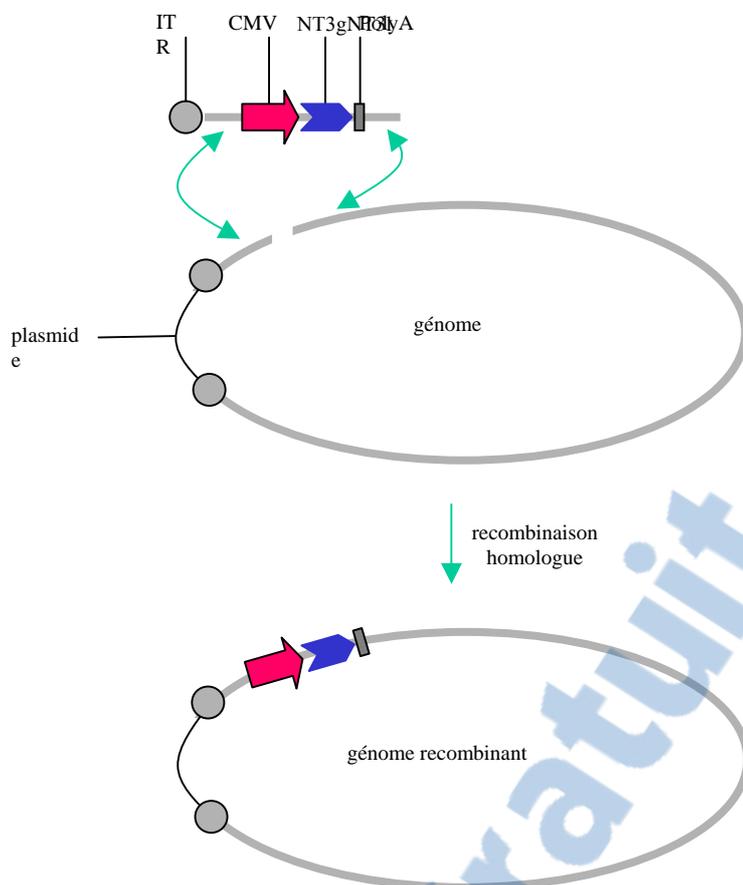


Figure 16: construction de l'adénovirus recombinant par recombinaison homologue d'après laboratoire E.N.V.A.-INRA de génétique moléculaire et cellulaire

1.1.2.2.4 *production du vecteur recombinant*

L'adénovirus utilisé dans cette étude est rendu déficient pour la réplication par délétion de la région précoce virale E1. Ce virus peut être produit en grande quantité à condition que les fonctions délétées soient apportées par un système de complémentation, ceci est accompli par la lignée de production 293. Les cellules humaines 293 expriment de manière constitutive la région E1 de l'adénovirus humain de type 5.

Le rendement est important, dans des conditions optimales d'infection : une cellule infectée peut donner naissance à 10^4 particules virales, si bien qu'en routine une production d'adénovirus recombinant titre de l'ordre de 10^{11} particules infectieuses/ml.

Des cellules 293 subconfluentes sont infectées par un inoculum d'adénovirus concentré (10-25 particules infectieuses/ml sous un volume maximal de 1 ml) : c'est l'étape d'adsorption au

cours de laquelle la fixation des virions aux cellules est optimisée qui dure environ 1 heure à 37°C.

L'infection se prolonge au delà après avoir rajouté le milieu de culture nécessaire aux cellules infectées pendant 48-72 heures.

L'infection est stoppée avant la fin du cycle viral lorsque la majorité des virions se trouve encore à l'intérieur des cellules, les cellules présentant un effet cytopathique sont alors récupérées et centrifugées : c'est la première étape de concentration.

Lors d'une production de routine 40 boîtes de cellules sont impliquées, ce qui représente un volume total de 280 ml de milieu, après cette première étape de concentration les cellules se trouvent sous un volume de 15 ml. Les virions sont ensuite libérés des cellules par plusieurs cycles de congélation/décongélation. Le lysat cellulaire est clarifié par centrifugation. Les virions sont enfin purifiés par une ultracentrifugation de concentration suivie d'une ultracentrifugation à l'équilibre en chlorure de césium et conservés, aliquotés, à -70°C en présence de 10 % de glycérol.

I.1.3 Matériel chirurgical

I.1.3.1 **matériel général**

Le matériel chirurgical nécessaire comprend une trousse de chirurgie générale ; des écarteurs autostatiques (écarteurs de Gelpi) ; du matériel de suture résorbable POLYSORB 1, 2/0 ND, Ussc) pour les plans musculaires et sous-cutané, irrésorbable (ETHICRIN 7/0,; ETHILON 2/0 ND, Ethicon) respectivement pour le repérage du site d'écrasement et le plan cutané ; des blouses et champs stériles à usage unique.

I.1.3.2 **matériel spécifique**

Le matériel d'écrasement se compose d'une presse, d'un dynamomètre et d'un chronomètre.

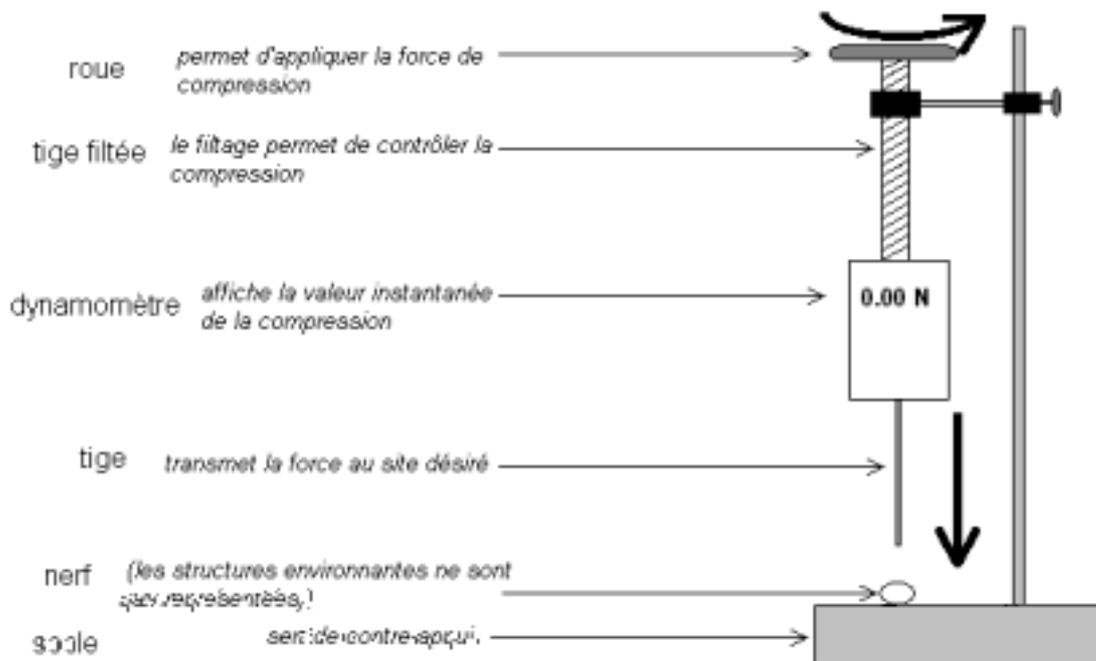


Figure 17 : dispositif de compression utilisé pour réaliser le lésion d'axotomie contrôlée



Figure 18: photographie du dispositif d'écrasement décrit par la figure 17

I.1.4 Matériel d'évaluation

I.1.4.1 **électromyographe**

L'appareil utilisé est un électromyographe VIKING IV de marque Nicollet.

I.1.5 Environnement nécessaire

La manipulation d'Organismes Génétiquement Modifiés potentiellement pathogènes a imposé de travailler dans des conditions de sécurité particulières. Les interventions chirurgicales ont été réalisées dans un local de niveau 2 de protection (P2). Les animaux opérés ont connu une période de quarantaine de 6 jours.

1.2.1.1.2 préparation de l'équipe opératoire

La procédure exige la présence de trois personnes portant masque et calot: deux chirurgiens et un anesthésiste.

Les chirurgiens se préparent de manière classique à une chirurgie dans les règles de l'asepsie. Après plusieurs lavages des mains à l' HIBIVET ND (Schering Plough vétérinaire) , ils revêtent des blouses stériles à usage unique ainsi que deux paires de gants stériles.

1.2.1.2 considérations anesthésiques

1.2.1.2.1 prémédication

Les animaux sont prémédiqués par voie intramusculaire, au moins une demi-heure avant l'intervention à l'aide d'un mélange de morphine (MORPHINE ND, Aguetant) à 0,2 mg/kg, d'acépromazine (CALMIVET ND, Vétoquinol) à 0,5 mg/kg, et de glycopyrrolate (ROBINUL ND, Vétoquinol) à 0,005 mg/kg.

1.2.1.2.2 induction

L'induction se fait grâce au thiopental (NESDONAL ND, Merial) à une dose permettant l'intubation dans de bonnes conditions (de 5 à 10 mg/kg).

1.2.1.2.3 maintien

Les temps opératoires se réalisent sous anesthésie gazeuse : halothane (HALOTHANE BELAMONT ND, Bélamont) (1 à 2 %) sous oxygène pur. L'appareil d'anesthésie comporte un circuit circulaire semi-fermé recirculant. Un ventilateur est disponible (risque de pneumothorax iatrogène).

1.2.1.2.4 prévention des déficits liquidiens

Les animaux sont perfusés à l'aide de Ringer Lactate, à la dose de 10 mL/kg/h, pendant l'opération et jusqu'au réveil complet.

I.2.1.2.5 *analgésie*

L'analgésie débute lors de la prémédication grâce à la morphine dont la durée d'action peut être estimée à 6 heures.

Une demi-heure avant le réveil, une injection intraveineuse de kétoprofène (KETOGEN ND, Merial) à 2 mg/kg est pratiquée.

Après extubation, des bolus de 0,1 mg/kg de morphine sont administrés, en fonction de la douleur décelable chez l'animal.

Pendant le réveil, un dispositif transcutané de fentanyl (DUROGESIC ND, Janssen) est posé (libération de 2 µg/kg/h pendant 3 jours environ) ; il prend le relais dans les 12 heures suivant son installation.

I.2.1.3 **abord chirurgical**

Un abord médial du plexus brachial est effectué, il se confond dans les premiers temps avec un abord médial de l'humérus selon BRINKER (12) puis s'élargit avec la désinsertion des muscles pectoraux.

L'ouverture et l'hémostase des tissus sous-cutanés sont réalisées.

Le muscle brachio-céphalique est récliné crânialement. Les muscles pectoraux sont incisés à proximité de leur insertion sur l'humérus. La veine céphalique est préservée par réclinaison crâniale. Les nerfs sont alors dégagés de leur enveloppe conjonctive et graisseuse.

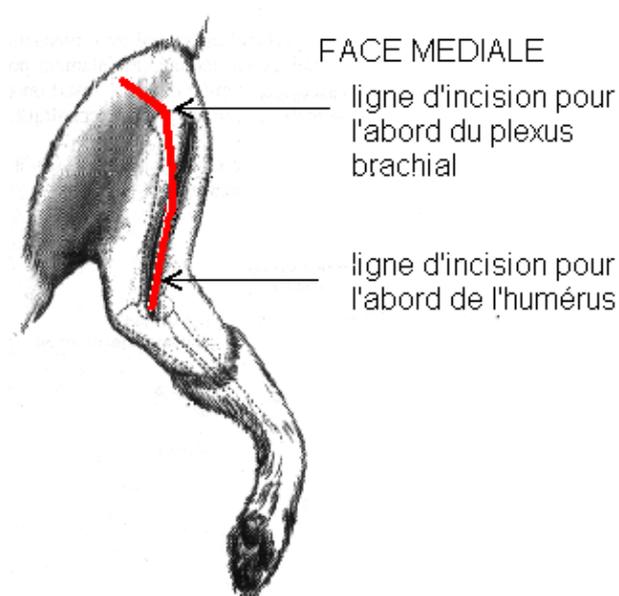


Figure19 : modification de l'incision cutanée pour l'abord médial du plexus brachial (d'après 12)

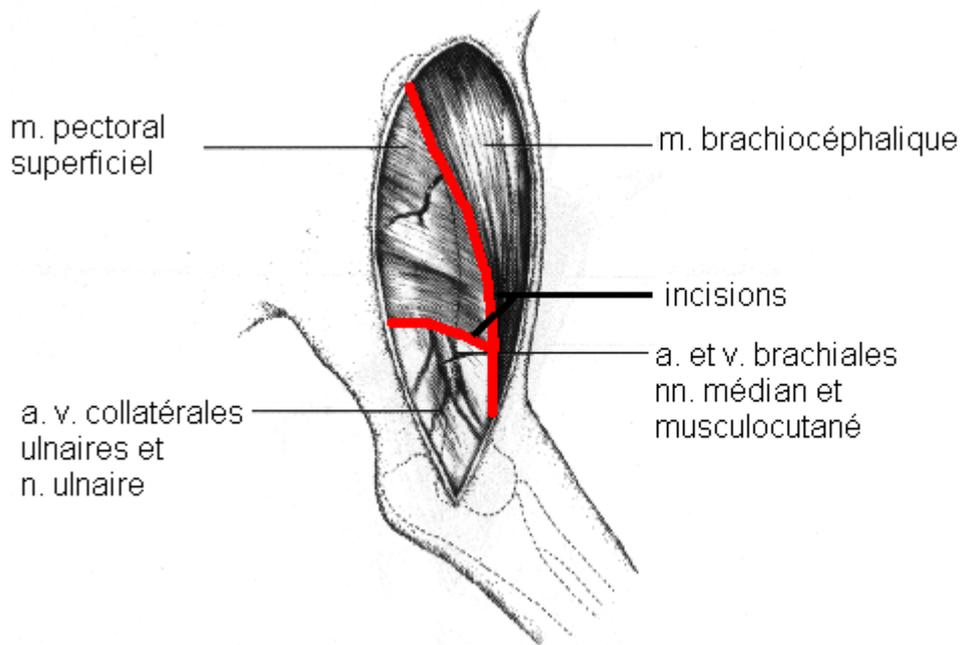


Figure 20 : incision du fascia brachial profond entre les mm. brachiocéphalique et pectoral superficiel (d'après 12)

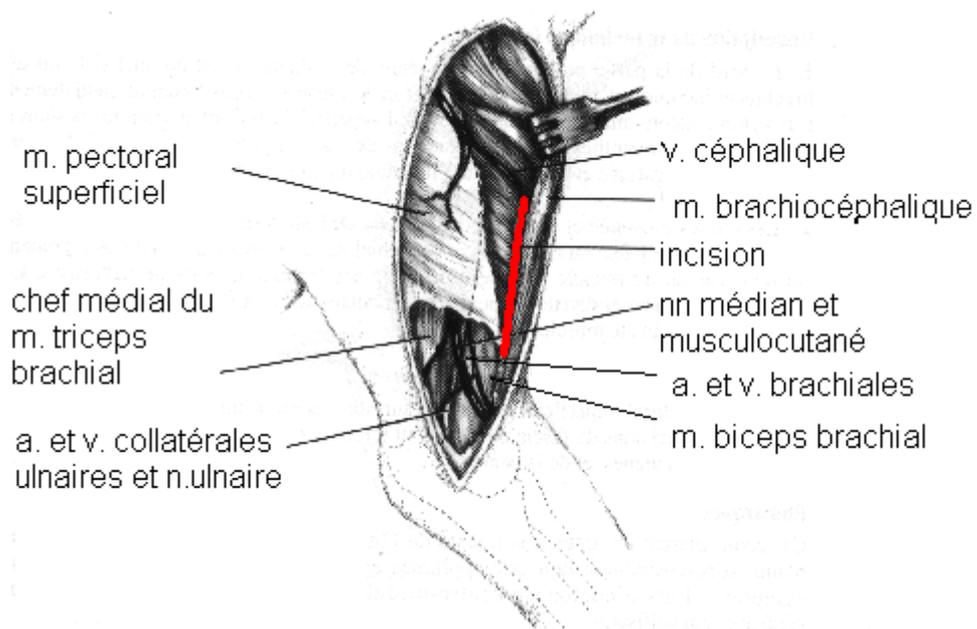


Figure 21 : désinsertion périostée du m. pectoral superficiel (d'après 12)

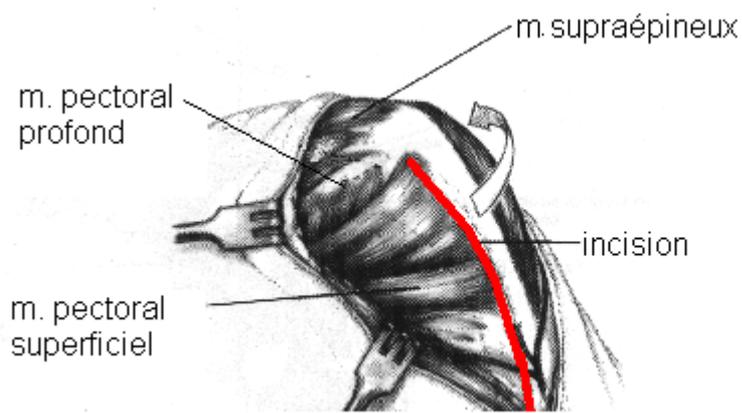


Figure 22: poursuite de la désinsertion du m. pectoral superficiel (extension possible de l'incision au m. pectoral profond et au m. grand rond et grand dorsal sous-jacents) (d'après 12)

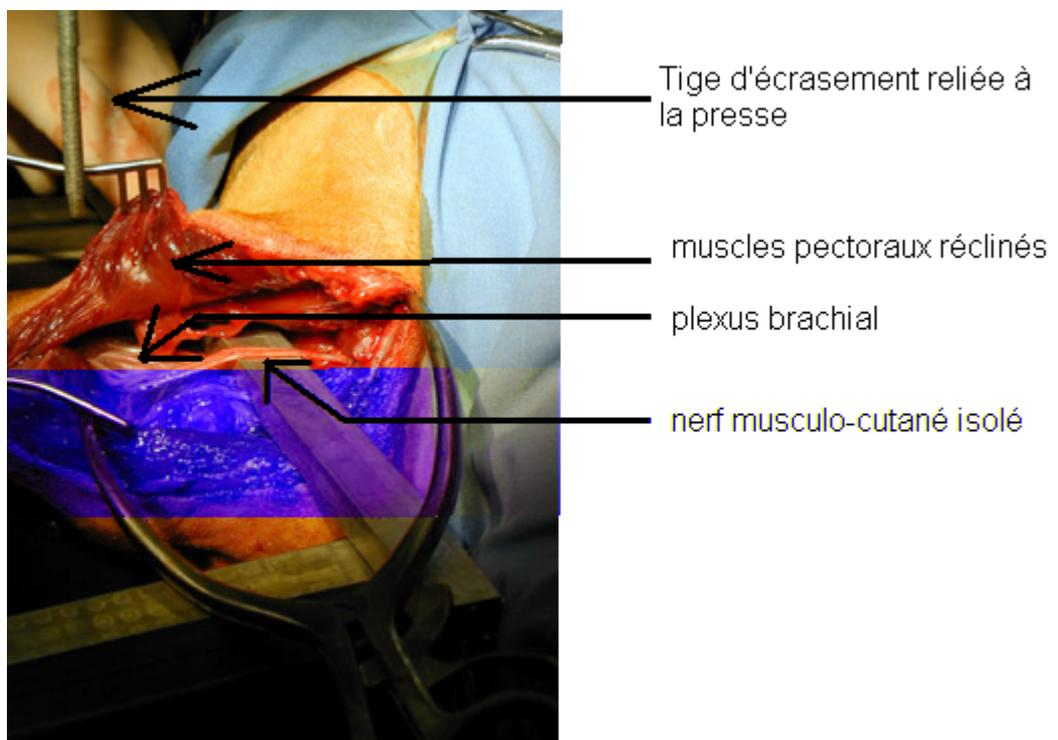


Figure 23 : abord complet après dissection des tissus couvrant le plexus brachial et exposition du nerf musculo-cutané (on aperçoit le dispositif d'écrasement)

I.2.1.4 réalisation de la lésion d'axonotmesis

L'isolement des deux nerfs cibles (musculo-cutané et ulnaire) est réalisé le plus proximale possible, ie respectivement presque jusqu'au plexus proprement dit et jusqu'à ce que la dissection avec le nerf médian ne soit plus possible.

Le dispositif de compression stérile est mis en place. Le nerf est disposé sur la presse. L'écrasement se fait avec une force de 150 N pendant 10 minutes (contrôles à l'aide d'un dynamomètre et d'un chronomètre) selon les normes définies par CHEN (16).

Le site est ensuite repéré par un point de suture de fil irrésorbable monobrin 7/0 posé à 3 mm proximale sur l'épinièvre.

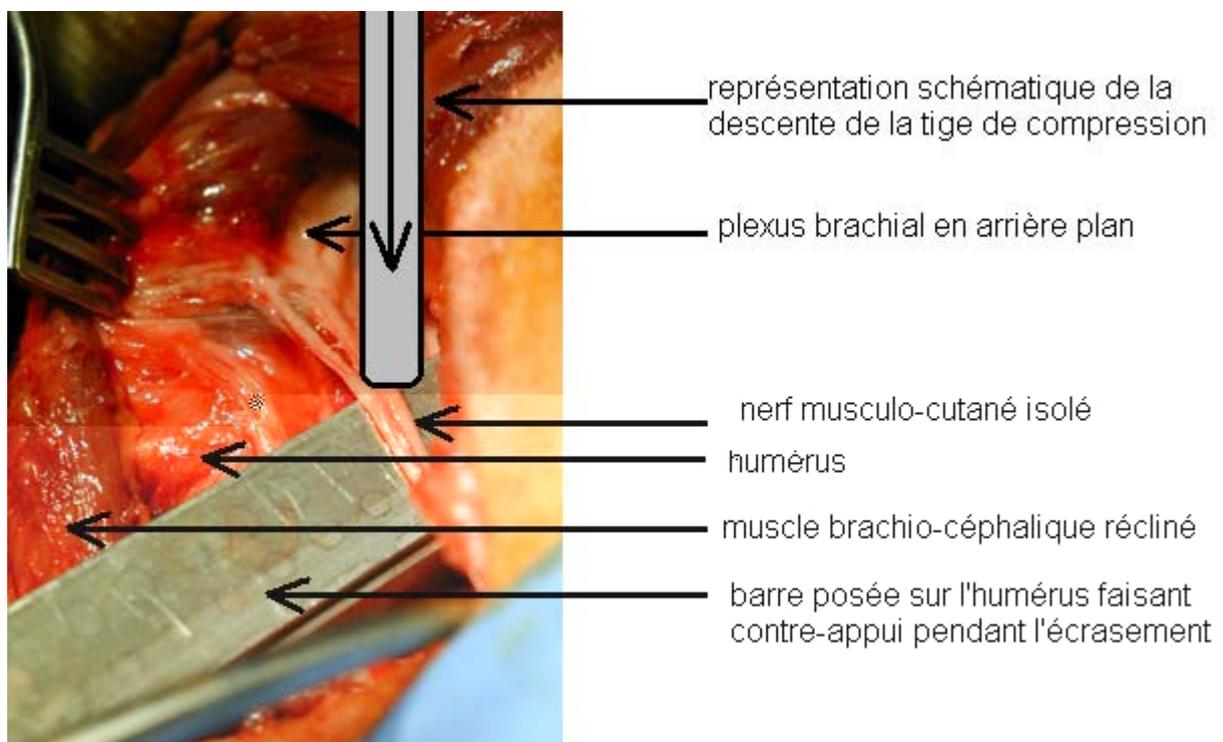


Figure24 : représentation de la compression sur le nerf musculo-cutané isolé

I.2.1.5 injection du vecteur

Juste après la lésion, environ 0.1 ml de suspension virale ou de liquide physiologique stérile sont injectés sous le périnèvre à proximité du site d'écrasement et environ 0.5 ml dans les muscles environnants conformément aux observations de DUPIRE (32).

1.2.1.6 période post-opératoire

Les animaux sont examinés matin et soir pendant cinq jours.

Une analgésie complémentaire est réalisée en fonction des besoins de chacun (ketoprofène, KETOFEN ND, 1mg/kg/j).

Un pansement contentif et semi-compressif est mis en place sur chaque animal. Il assure une suppression d'appui et améliore le confort du chien. Il l'empêche en outre de faire subir une extension au nerfs qui ont subi l'écrasement.

1.2.2 Moyens d'évaluation

1.2.2.1 évaluation clinique

Pour l'examen neurologique spécifique du membre, la capacité de flexion du coude et du carpe, la sensibilité des territoires cutanés des nerfs musculo-cutané et ulnaire, l'amyotrophie des fléchisseurs du bras et du carpe ont été particulièrement évaluées. Une notation simple a été utilisée :

- Amyotrophie : absente (2), perceptible(1) ou majeure(0)
- Flexion : normale(2), diminuée(1), absente(0)
- Sensibilité cutanée : normale(2), diminuée(1), augmentée(1), absente(0)

1.2.2.2 évaluation électrophysiologique

Les évaluations électrophysiologiques sont mises en place à j7 et J45. Elles sont effectuées sur animal anesthésié. Le protocole anesthésique comprend une tranquillisation au diazépam (VALIUM ND) suivie d'une induction au thiopental (NESDONAL ND) et d'un relais à l'isoflurane (FORENE ND) sous oxygène pur.

1.2.2.2.1 *électromyographie*

Les animaux subissent deux évaluations électromyographiques : la première à j7 qui permet d'apprécier la lésion d'axonotmesis. La seconde, à j45, fait partie de l'examen électrophysiologique final.

Elles comprennent un examen des muscles biceps brachial (nerf musculo-cutané) et des muscles fléchisseur ulnaire du carpe et interosseux (nerf ulnaire). Chaque muscle est piqué en plusieurs endroits.

1.2.2.2 *électroneurographie*

Les potentiels évoqués moteurs ont été réalisés lors de l'évaluation finale à j45. Pour limiter les erreurs de placement des électrodes, le plexus brachial a été à nouveau abordé et les nerfs stimulés directement.

Le nerf musculo-cutané et le biceps brachial ont été évalués d'une part, le nerf ulnaire et les muscles fléchisseurs et interosseux d'autre part. Pour limiter les biais liés à une stimulation involontaire par conduction du nerf médian, celui-ci a été sectionné et le nerf ulnaire placé dans un dispositif isolant.

Une notation simple a été utilisée :

0 : absence de réponse ; **1** : réponse de faible amplitude, polyphasique ; **2** : réponse monophasique de faible amplitude ; **3** : réponse monophasique d'amplitude proche de la normale

1.2.2.3 **évaluation histologique**

Les animaux sont euthanasiés à j45 après la dernière évaluation électrophysiologique et les prélèvements sont alors effectués.

1.2.2.3.1 *protocole d'euthanasie*

Lors de l'anesthésie réalisée pour la deuxième évaluation électrophysiologique, les animaux sont sacrifiés. A la fin de l'examen, le pourcentage d'isoflurane est augmentée et une dose létale de pentobarbital (DOLETHAL ND, Vétuquinol) est injectée par voie veineuse.

1.2.2.3.2 *prélèvements*

Les tissus sont prélevés dans deux buts :

- Evaluer la distance de repousse et la réinnervation (prélèvements musculaires et nerveux)
- Repérer la dissémination du vecteur viral dans l'organisme (autres prélèvements destinés à une autre étude concernant le vecteur)

Tissu prélevé	Zone de prélèvement	Taille de l'échantillon	Membre sain	Membre opéré
<u>Tissu nerveux</u>				
<i>Nerf musculo-cutané</i>	Du plexus brachial jusqu'au biceps et jusqu'au rameau communiquant	Environ 10cm	Oui	Oui
<i>Nerf ulnaire</i>	Du plexus brachial à la zone distale de l'avant bras	Environ 20 cm	Oui	Oui
<i>Moelle épinière</i>	De C5 à T2	Environ 8 cm		
<u>Tissu musculaire</u>				
<i>Muscle Biceps brachial</i>	Tiers proximal	Environ 1 cm ³	Oui	Oui
<i>Muscle Fléchisseur ulnaire du carpe (chef ulnaire)</i>	Tiers proximal	Environ 1 cm ³	Oui	Oui
<u>Autres tissus</u>				
<u>Foie</u>	Lobe latéral droit	Environ 1 cm ³		

Tableau 6 : récapitulatif des tissus prélevés en vue d'analyse histologique

Des prélèvements de sérum ont été réalisés sur chaque chien à j0 et J45. Ils sont destinés, dans le cadre de l'étude concernant le vecteur, à évaluer par dosage des anticorps l'éventuelle réponse immunitaire orientée contre l'adénovirus.

1.2.2.3.3 *traitement des prélèvements*

L'étude histologique étant traitée dans un travail indépendant de celui-ci, nous ne détaillerons pas le protocole de fixation, d'inclusion et de coloration.

II RESULTATS

II.1 Evaluation clinique

II.1.1 Etat général

L'état général de tous les animaux est resté bon durant toute la durée de la manipulation.

II.1.2 Examen neurologique

Pour l'examen neurologique spécifique du membre, la capacité de flexion du coude et du carpe, la sensibilité des territoires cutanés des nerfs musculo-cutané et ulnaire, l'amyotrophie des fléchisseurs du bras et du carpe ont été particulièrement évaluées. Une notation simple a été utilisée :

- Amyotrophie : absente (2), perceptible(1) ou majeure(0)
- Flexion : normale(2), diminuée(1), absente(0)
- Sensibilité cutanée : normale(2), diminuée(1), augmentée(1), absente(0)

<u>Lot numéro,</u> <u>Chien</u> <u>numéro</u>	Sensibilité		Flexion		Amyotrophie
	Musculo-cutané	Ulnaire	Coude	Carpe	
L1C1	0	2	2	1	1
L1C2	2	2	2	1	1
L1C3	2	2	2	1	1
L1C4	2	2	2	1	1
L1C5	2	2	2	1	1
L2C1	2	2	2	2	1
L2C2	2	2	2	2	1
L2C3	2	2	2	1	1
L2C4	2	2	2	2	1
L2C5	2	2	2	2	1
L3C1	0	2	2	2	1
L3C2	2	2	2	1	1
L3C3	2	2	2	2	1
L3C4	2	2	2	1	1
L3C5	2	2	2	2	1

Tableau 7 : score clinique des membres opérés à j45 (sensibilité, flexion et amyotrophie)

Tous les animaux possèdent une sensibilité et une motricité sensiblement normales. La valeur de la distinction entre la flexion normale et diminuée est difficile à évaluer car les examens cliniques étaient parfois laborieux avec des chiens mal sociabilisés.

Une amyotrophie a été retrouvée chez tous les animaux, sur les muscles fléchisseurs du bras et de l'avant bras. Cliniquement, les muscles paraissaient discrètement indurés et fibrosés.

II.2 Evaluation électrophysiologique

II.2.1 Electromyographie

Les évaluations ont eu lieu à j7 et à j45, avant l'euthanasie.

Chien	Activité spontanée			Confirmation de la lésion du nerf		Remarques
	Biceps brachial	Fléchisseur ulnaire du carpe	Interosseux	musculo-cutané	ulnaire	
L1C1	2	2	2	Oui	Oui	
L1C2	2	2	2	Oui	Oui	
L1C3	2	2	2	Oui	Oui	
L1C4	2	2	2	Oui	Oui	
L1C5	2	2	2	Oui	Oui	
L2C1	2	2	2	Oui	Oui	
L2C2	2	2	2	Oui	Oui	
L2C3	2	2	2	Oui	Oui	
L2C4	2	2	2	Oui	Oui	
L2C5	2	2	2	Oui	Oui	
L3C1	2	2	2	Oui	Oui	Activité spontanée des muscles extenseur radial du carpe et triceps (neurapraxie du nerf radial)
L3C2	2	2	2	Oui	Oui	
L3C3	2	2	2	Oui	Oui	
L3C4	2	2	2	Oui	Oui	Activité spontanée des muscles extenseur radial du carpe et triceps (neurapraxie du nerf radial)
L3C5	2	2	2	Oui	Oui	Activité spontanée des muscles extenseur radial du carpe et triceps (neurapraxie du nerf radial)

Tableau 8 : résultat de l'examen électrophysiologique à j7

Les examens électromyographiques ont mis en évidence une activité spontanée de forte intensité et répartie sur l'ensemble du corps charnu de muscles explorés. Une discrète activité spontanée a été retrouvée sur les muscles triceps brachial et extenseur radial du carpe sur 3 chiens. La discrétion des signes et l'absence d'autres anomalies à l'examen ont permis de conclure à une lésion de type neurapraxie du nerf radial.

Chien	Activité spontanée		
	Biceps brachial	Fléchisseur ulnaire du carpe	Interosseux
L1C1	2	2	2
L1C2	2	2	2
L1C3	2	2	2
L1C4	2	2	2
L1C5	1	2	2
L2C1	1	2	2
L2C2	1	1	2
L2C3	1	1	1
L2C4	1	1	1
L2C5	1	1	1
L3C1	2	2	2
L3C2	1	1	1
L3C3	1	1	2
L3C4	1	1	1
L3C5	1	1	1

Tableau 9 :récapitulatif de l'activité spontanée des muscles biceps brachial, fléchisseur ulnaire du carpe et interosseux du le membre opéré à j45

La présence d'une activité spontanée a été mise en évidence chez tous les chiens au moment du l'examen final, discrètement plus marquée cependant chez les chiens du lot 1. Elle est toujours moins marquée que lors de l'examen à j7.

II.2.2 Electroneurographie

La manière d'établir le score est rappelée ci-dessous :

- 0 : absence de réponse
- 1 : réponse de faible amplitude, polyphasique
- 2 : réponse monophasique de faible amplitude
- 3 : réponse monophasique d'amplitude proche de la normale

Chien	Réponse à l'électrostimulation		
	Biceps brachial	Fléchisseurs	Interosseux
L1C1	0	0	0
L1C2	0	0	0
L1C3	1	0	0
L1C4	1	0	0
L1C5	1	1	0
L2C1	1	1	1
L2C2	2	0	0
L2C3	1	1	0
L2C4	1	1	1
L2C5	0	1	1
L3C1	2	ininterprétable	0
L3C2	3	1	0
L3C3	3	0	0
L3C4	1	0	0
L3C5	3	1	0

Tableau 10 : réponse à l'électrostimulation à j45 des muscles biceps brachial, fléchisseurs et interosseux du membre opéré et score associé

Les potentiels de nerf moteurs ont montré qu'aucun animal n'a montré de récupération motrice évidente sur les muscles innervés par le nerf ulnaire (fléchisseurs et interosseux). Des

réponses polyphasiques de très faible amplitude sont tout de même notée sur 7 chiens pour le muscle fléchisseur ulnaire du carpe et sur 3 chiens pour les muscles interosseux.

Dans les lots L1 et L2, une ébauche de récupération, toute fois là encore non flagrante, s'est fait sur le biceps brachial (nerf musculo-cutané). En revanche des potentiels évoqués moteurs plus proche de la normale ont été retrouvés sur les chiens du lot L3 (lot témoin). Ce sont des signes précoces de réinnervation.

Animal	Distance maximale au site d'écrasement d'enregistrement du potentiel de nerf ulnaire
L1C1	Ininterprétable
L1C2	Environ 7 cm
L1C3	Environ 7 cm
L1C4	Environ 7 cm
L1C5	Ininterprétable
L2C1	Ininterprétable
L2C2	Ininterprétable
L2C3	Au moins 12cm
L2C4	Au moins 12cm
L2C5	Au moins 12cm
L3C1	Ininterprétable
L3C2	Ininterprétable
L3C3	Environ 7 cm
L3C4	Ininterprétable
L3C5	Ininterprétable

Tableau 11: évaluation de la distance maximale d'enregistrement du potentiel de nerf ulnaire après stimulation, par rapport au site d'écrasement

Les distances maximales d'enregistrement du potentiel de nerf ont été techniquement difficiles à réaliser, et vu le nombre de résultats jugés interprétables car aberrants ou non répétables, des conclusions fiables seront difficiles à tirer.

Lorsque la mesure était possible, la distance la plus courante étaient d'environ 7 cm (4 chiens sur 15) soit une vitesse de repousse d'environ 1,6 mm par jour. Les chiens pour lesquels

la distance est considérée comme étant supérieure ou égale à 12 cm sont les animaux présentant une réponse aux potentiels évoqués moteurs sur le muscle fléchisseur ulnaire du carpe mais dont les enregistrements distaux sur le nerf ulnaire étaient jugés ininterprétables. Ces chiens ont présenté une vitesse de repousse supérieure ou égale à 2.7 mm par jour.

II.3 Evaluation histologique

Ces données font l'objet d'un autre travail actuellement en cours de réalisation et de publication.

Les résultats escomptés doivent permettre de déterminer la distance fiable de repousse axonale sur chaque chien et d'effectuer un comptage axonal comparé avec le nerf controlatéral. D'autre part, il sera possible également de juger de la myélinisation des fibres en repousse.

Ces données doivent nous permettre de donner des valeurs de référence pour la vitesse de repousse axonale après lésion d'axonotmesis par écrasement chez le chien.

Les prélèvements de foie et de sérum permettront de tracer le vecteur dans l'organisme et d'estimer la réponse immunitaire humorale systémique de ce dernier à ce type de supplémentation en facteur de croissance.

Enfin, l'analyse de l'extrémité distale des nerfs lésés doit confirmer que dans les différents lots, aucune réponse n'est « ultime », ce qui validera le modèle (écrasement total, repousse incomplète dans tous les lots).

III DISCUSSION

III.1 Analyse critique du protocole expérimental

III.1.1 Critique du matériel

III.1.1.1 choix de l'espèce

Les espèces animales les plus couramment choisies pour l'étude expérimentales des nerfs périphériques sont le rat, le chat (45) , le singe(54), le chien(55, 61), le porc(20). Il s'agit de mammifères car les similitudes histologiques avec le nerf humain sont établies. Il a été montré que le nerf de rat (l'espèce la plus utilisée pour des raisons de facilité de manipulation et de coût évidentes) est fondamentalement indiscernable du nerf humain (52).

Le chat et le chien présentent l'intérêt de pouvoir être directement confrontés aux données cliniques des cas spontanés rencontrés en médecine vétérinaire.

L'intérêt du chien réside dans la longueur relative des nerfs périphériques utilisable pour évaluer la régénération axonale(particularité mise à profit par Matsumoto(55) par exemple). Les données de référence de vitesse de repousse établie chez le rat et le lapin est de l'ordre de 3 à 4mm par jour après une lésion d'écrasement(69). Dans le cadre des autres espèces, comme le chien, la valeur est extrapolée, car à notre connaissance, il n'existe aucune donnée publiée dans cette espèce. La grande longueur d'étude disponible doit permettre d'obtenir une plus grande précision sur la distance de repousse lors des données histologiques. Le chien est également susceptible de subir des examens neurologiques plus complets.

III.1.1.2 choix des nerfs

Les nerfs périphériques choisis sont deux nerfs moteurs et sensitifs du plexus brachial. Ce choix dépend de plusieurs facteurs d'ordre tout à fait différents.

Le premier est que cette étude s'inscrit dans un projet plus vaste qui s'intéresse tout particulièrement au plexus brachial, à ses lésions et aux possibilités thérapeutiques associées.

De plus, la longueur des nerfs (qui a justifiée en partie le choix de l'espèce) est adaptée à l'étude. Sur des chiens Beagle d'environ 12 kg, la longueur dissécable du nerf musculo-cutané approche les 10 cm et celle du nerf ulnaire les 20 cm. La distance de repousse spontanée à j 45 est estimée par anticipation entre 135 et 180 mm. Cela revient à dire que nous nous attendons à

une récupération sur la plupart des animaux sur le nerf musculo-cutané et que l'évaluation de la distance de repousse sur le nerf ulnaire doit permettre la discrimination entre les lots.

Les nerfs sensitifs et moteurs sont bien accessibles à l'évaluation clinique et électrophysiologique.

Enfin, la paralysie partielle induite par la lésion d'axonotmesis sur ces nerfs provoque des troubles acceptable d'un point de vue éthique pour les animaux, qui sont capables de se déplacer et de mener une vie presque normale, même pendant la durée d'expression clinique de la paralysie partielle.

III.1.1.3 **choix du facteur de croissance**

L'utilisation de NT3 en thérapie génique a déjà été réalisée expérimentalement (39, 41) et a confirmé les espoirs portés par ce facteur.

La structure et le mode d'action sont suffisamment élucidées pour en faire un candidat crédible ; son caractère neurotrope quasi-exclusif est établi. La conservation de ce facteur a permis également de produire relativement aisément la NT3 canine pour les besoins de l'étude.

NGF ou NT-4 auraient été aussi des candidats satisfaisants. Cependant, l'absence, d'une part, à notre connaissance d'essais de thérapie génique avec ces facteurs et d'autre part leur action théorique sur les cellules de Schwann et la myélinisation auraient compliqué la tâche(83).

Le choix de la neurotrophine canine est censé nous prémunir d'une immunisation de l'hôte contre le facteur de croissance, ce qui est décrit pour la correction de l'hémophilie A chez le chien (19).

III.1.1.4 **choix du vecteur**

Les adénovirus sont des vecteurs utilisés en thérapie génique de longue date. Les renseignements nombreux les concernant, le coût relativement réduit des souches en font de très bons vecteurs dont le succès ne s'effrite pas.

Leur génome est bien cartographié et ses manipulations codifiées. Ce sont des vecteurs de pathogénicité réduite dont la manipulation est aisée et peu risquée. (73)

Les adénovirus sont capables d'infecter des cellules post-mitotiques dans la plupart des cellules même très différenciées de l'organisme, élément indispensable dans le cas de notre étude.

Ces vecteurs persistent peu dans l'organisme, en particulier lorsqu'ils sont de première génération. La présence d'une immunité pré-existante accentue ce défaut. Ce détail a son importance parce que les différents adénovirus présentent des immunisations croisées et que ils sont répandus dans l'environnement naturel. En outre, la vaccination systématique des chiens contre l'Hépatite de Rubarth grâce au CAV-2 (Canine Adenovirus 2, un des cofacteurs du syndrome « toux de chenil ») peut poser un problème spécifique.

Dans le cadre de protocoles expérimentaux courts, cette disparition relativement rapide du vecteur et donc la plupart du temps de la supplémentation pose rarement des difficultés majeures. Cependant, les adénovirus sont de mauvais candidats pour la thérapie génique à long terme sur cas spontané.

Dans le cas d'un succès de ce protocole, il serait opportun d'envisager un vecteur plus persistant.

III.1.2 Critique de la méthode

III.1.2.1 **Choix des groupes**

A notre connaissance, aucune étude n'a été consacrée à l'influence des adénovirus sur la régénération axonale. La présence d'un groupe adénovirus sans NT3 s'est donc imposée afin de pouvoir valider une éventuelle amélioration de la repousse sans ce biais.

La présence du groupe témoin est bien évidemment indispensable mais présente un intérêt supplémentaire ici : il doit permettre de confirmer que l'extrapolation des vitesses de croissance nerveuse murines n'est pas abusive et, le cas échéant, d'estimer les valeurs canines.

Le nombre restreint d'animaux (cinq par groupe soit quinze au total) s'explique principalement par des raisons éthiques et économiques. En outre, cette méthode de supplémentation ne se justifierait en clinique, vu sa lourdeur technique, que si le bénéfice obtenu sur la repousse était manifeste. Les différences seraient alors hautement significatives et le faible effectif ne représenterait alors qu'un défaut négligeable.

III.1.2.2 **Choix de la lésion**

Le cahier des charges de l'étude impose une possibilité de récupération spontanée pour le nerf lésé. La question est « NT3 augmente-t'il la vitesse de repousse et/ou améliore-t'il la qualité de la régénération axonale » et non « NT3 permet-il une repousse dans des conditions où elle reste impossible dans des conditions normales ». Seuls la neurapraxie et

l'axonotmésis (idéalement de type 2 ou 3 selon Sunderland) correspondent à ces besoins. La neurapraxie ne s'accompagnant pas de lésion axonale cellulaire et donc de dégénérescence Wallérienne, elle perd tout son intérêt éventuel. L'axonotmésis s'impose comme l'unique choix logique.

Les différents moyens techniques d'infliger une lésion de ce type à un nerf périphérique ont été bien étudiés expérimentalement. Les modèles les plus utilisés sont mécaniques et leurs caractéristiques sont définies (durée, force d'écrasement)(16). Il est possible de les réaliser à l'aide d'une pince hémostatique(11), d'un constricteur améroïde (modèle de lésion chronique)(20), ou idéalement d'une presse contrôlée par un dynamomètre(c'est le cas dans notre étude).

III.1.2.3 **choix des moyens d'évaluation**

Ils correspondent dans cette étude au moyens habituels d'étude de la récupération des lésions nerveuses périphériques.

L'évaluation clinique est plus facilement réalisable chez le chien mais présente l'inconvénient majeur de n'être pas quantifiable par une échelle semi-quantitative par un système de score validé, comme c'est par exemple le cas chez le rat (analyse des traces de pas (nerf sciatique) (26) ou grasping test(nerf ulnaire)(6)). L'intérêt au départ escompté, à savoir la plus grande précision de l'examen clinique, ne s'est pas vraiment confirmé lors de notre étude. En effet, de nombreuses difficultés imprévues se sont manifestées car les chiens vivant en chenil étaient terrorisés en salle d'examen. Nous avons pu les voir évoluer dans le chenil, en groupe, mais il était impossible de les faire évoluer normalement lorsqu'ils étaient isolés, dans une pièce. L'évaluation motrice s'est donc révélée très décevante. On peut remarquer que, dans d'autres protocoles utilisant l'espèce canine (55), la clinique garde une place très secondaire (ils évoquent une fonction « presque normale à 10-12 mois après implantation »)

L'évaluation électrophysiologique de notre étude présente deux défauts manifestes. Le premier est l'absence de mesure des potentiels évoqués somato-sensoriels (somato-sensory evoked potentials (SEP)) enregistrés sur le cortex(55). C'est l'impossibilité technique de réaliser ces examens dans notre laboratoire au moment de l'étude qui justifie cette lacune du protocole.

L'autre défaut est l'absence de mesure des valeurs du membre controlatéral. Elle aurait permis le calcul de l'index de récupération fonctionnelle (recovery index(46) qui représente le rapport entre les valeurs de deux membres. Il s'agit lors du calcul de cet index de donner une valeur objective et interprétable des mesures électrophysiologiques. Il représente le rapport entre les latences des potentiels évoqués moteurs entre le côté opéré et le côté sain.

Indice de récupération = (latence du côté opéré) / (latence du côté sain)

Cependant, les difficultés rencontrées dans notre évaluation (résultats aberrants, non répétables, présence d'une fibrose musculaire modifiant les enregistrements) ont compromis de toute manière la possibilité de tirer des conclusions fiables.

L'évaluation histologique a plusieurs objectifs qui font partie d'une étude indépendante de ce travail: elle doit permettre d'abord de quantifier et de qualifier la repousse axonale afin de répondre de manière objective et définitive aux questions posées par le protocole. D'autre part, plusieurs tissus de l'organisme sont prélevés pour contrôler la dissémination du vecteur. Enfin elle doit déterminer au final la validité de tout le modèle.

III.1.2.4 choix des délais d'évaluation

Les deux principales étapes de l'évaluation se situent à j7 (7 jours après la lésion) et à j45. La première est un contrôle qui doit valider la lésion (son site, son type). Il est nécessaire d'attendre au moins six jours après une lésion nerveuse périphérique pour réaliser un examen électrophysiologique porteuse de renseignements exploitables (7).

Le délai de 45 jours s'inscrit dans la logique déjà évoquée des prévisions sur les distances de repousse.

III.2 ANALYSE DES RESULTATS

III.2.1 Etude clinique

Tous les animaux utilisent leur membre opéré à j45. Ils présentent tous une discrète gêne de la démarche et une amyotrophie modérée.

L'examen neurologique met en évidence de rares troubles de sensibilité et une fonction motrice (flexion) quasiment normale pour le coude, parfois diminuée pour le carpe.

Il est extrêmement difficile de juger sur les seules données cliniques de l'importance relative de la fibrose musculaire et du déficit neurologique. Ces résultats doivent être interprétés avec grande précaution.

Cette partie des résultats n'est malheureusement que de peu d'intérêt vu les faibles différences cliniques entre les animaux (tous marchent) et la subjectivité du clinicien.

L'absence de différence clinique entre les groupes, en ce qui concerne la flexion du coude, peut s'expliquer par le fait que les prévisions de vitesse de repousse après axonotmesis, annonçaient cette récupération.

En revanche, les faibles différences entre les groupes pour la récupération des fonctions du nerf ulnaire sont nettement plus surprenantes. Les données ne laissaient présager qu'une récupération partielle pour les groupes témoins. Trois hypothèses sont envisageables : l'extrapolation des vitesses de repousse à partir des données murines serait une erreur car le chien récupère plus vite que le rat, l'axonotmesis ne serait que partiel et une partie des axones n'avaient subi qu'une neurapraxie ou enfin l'évaluation clinique ne serait pas fiable, en particulier à cause du nerf médian.

Ce bénéfice réduit apporté par l'examen clinique à l'évaluation est rencontré dans d'autres publications où le chien était choisi (55).

III.2.2 Etude électrophysiologique

Les résultats de l'électromyographie à j7 ont confirmé une lésion de type axonotmesis sur tous les nerfs musculo-cutanés et ulnaires traités. Notre modèle de lésion est donc validé (axonotmesis par compression à 150 N pendant 10 minutes) par ce moyen d'étude. La lésion de type neurapraxie sur le nerf radial rencontrée chez trois chiens s'explique vraisemblablement par une compression ou un étirement accidentel de ce nerf lors de la dissection du plexus brachial et de la réalisation de la compression.

Les résultats de l'évaluation à j45 montrent la persistance d'une activité spontanée, une réinnervation en cours sur le muscle biceps brachial, sans bénéfice pour le groupe traité. Tous ces éléments correspondent à une récupération comparable à l'évolution spontanée d'une lésion d'axonotmesis (distance de repousse nécessaire à la réinnervation inférieure à 3 mm par jour, activité spontanée en diminution).

Par contre, la mauvaise récupération sur le nerf ulnaire, en particulier pour le groupe traité s'explique difficilement. Elle est peut-être due à une surestimation de la distance de repousse par rapport aux données murines ou représente le premier signe évocateur d'un échec de cette nouvelle technique dans les conditions de notre expérimentation. Quoiqu'il en soit, ces résultats sont contradictoires avec ceux de l'examen clinique et la conclusion finale reste hasardeuse.

Cette étude de la réinnervation des fibres musculaires par électrophysiologie est extrêmement décevante, et ce à plusieurs titres.

D'abord, elle devait permettre d'évaluer les potentiels moteurs évoqués dans les muscles cibles choisis. Cela n'a pas toujours été possible. Un certain degré de fibrose a certes gêné l'obtention de résultats fiables mais des difficultés d'enregistrement inattendues se sont présentées, produisant un certain nombre de « trous » dans la série. D'autre part la discordance entre la récupération clinique et le peu de signes de réinnervation, en ce qui concerne les muscles fléchisseurs du carpe accentue les difficultés d'interprétation.

D'autre part, les résultats partiels obtenus ne sont pas très encourageants en ce qui concerne le succès du protocole. Les signes de réinnervation présents sur la quasi-totalité des animaux n'est pas surprenante : les connaissances actuelles permettaient de les prévoir. Mais la faible récupération sur le muscle fléchisseur ulnaire du carpe, la faible différence entre les lots et à plus forte raison l'apparente meilleure récupération du groupe témoin sont décevantes. Le manque de fiabilité de ces résultats nous laissent juste un peu d'espoir en attendant les résultats de l'étude histologique.

III.2.3 Etude histologique

Cette étude sera traitée dans un travail indépendant de celui-ci dont la réalisation et la rédaction sont encore en cours.

Les plus grands espoirs sont placés dans cette étape du protocole, car les autres moyens d'évaluation n'ont permis aucune conclusion fiable et laissent même redouter qu'aucun bénéfice ne serait apporté pour la repousse axonale par cette technique de stimulation, notamment en terme de vitesse.

III.3 INTERETS DE LA MANIPULATION

III.3.1 Intérêts escomptés

Les buts de cette étude étaient multiples, elle devait :

- permettre d'évaluer l'intérêt de l'utilisation de la neurotrophine 3 canine dans la repousse axonale périphérique en termes de vitesse, de qualité et de quantité de la population neuronale, de myélinisation
- valider la possibilité, chez le chien, de compléter par thérapie génique la croissance des axones en régénération
- valider l'extrapolation des données de vitesse de repousse axonale chez le chien, ou, le cas échéant, permettre de corriger ces valeurs

- réaliser un protocole expérimental acceptable pour les animaux de laboratoire.

III.3.2 Objectifs atteints

Cette manipulation a été compatibles avec les buts éthiques fixés : la qualité de vie des animaux a été correcte. L'analgésie péri-opératoire, inspirée des protocoles en usage en anesthésie clinique, a été satisfaisante. Le faible déficit neurologique a bien été toléré par les animaux.

Les moyens d'évaluation cliniques et électrophysiologiques mis en œuvre n'ont pas permis d'estimer l'intérêt de la technique en terme de repousse axonale. Ils sont plutôt en défaveur d'un bénéfice apporté par cette méthode de supplémentation.

La technique pourtant validée (32, 37) d'axotomie pourrait cependant être en cause. En effet, si l'analyse histologique confirme que cette lésion était bien effective sur l'ensemble des fibres nerveuses, alors nous pourrions conclure en l'inefficacité du NT3. Mais une lésion imparfaite, qui laisserait quelques fibres intactes pourrait tout à fait expliquer nos résultats : le déficit fonctionnel serait faible, il y aurait des signes électrophysiologiques de dénervation et la capacité de collatéralisation des axones restés intacts pourrait parfaitement permettre une récupération rapide. C'est donc le comptage axonal qui aura la plus grande valeur à nos yeux. A distance du site de lésion, le comptage d'un plus ou moins grand nombre d'axones aura une valeur quand à l'effet du NT3, même si les axones n'ont pas tous été lésés. A l'inverse, une technique mal maîtrisée pourrait tout aussi bien provoquer des lésions de type 3 ou 4 selon la classification de Sunderland et expliquer une régénération imparfaite.

Les résultats de la partie histologique du travail encore non publiés sont attendus impatiemment pour répondre définitivement à toutes ces questions et lever le soupçon d'échec qui plane sur notre manipulation.

CONCLUSION :

La revue des connaissances actuelles sur les possibilités thérapeutiques des lésions des nerfs périphériques met en exergue l'intérêt des facteurs de croissance dans l'accélération de la repousse axonale et les promesses de la supplémentation par thérapie génique.

Notre étude, qui fait partie intégrante d'un vaste projet consacré aux lésions du plexus brachial, avait pour but d'évaluer le bénéfice de la neurotrophine canine vectorisée par un adénovirus de première génération, après une lésion d'axonotmesis expérimental sur les nerfs ulnaire et musculo-cutané du chien.

Les moyens d'évaluation mis en œuvre dans ce travail (clinique et électrophysiologie) se sont révélés très décevants. Leur précision est insuffisante, leur répétabilité médiocre. En outre, des discordances fréquentes ont été relevées entre ces moyens d'évaluation. L'hypothèse d'une lésion imparfaite d'axonotmesis (pourtant validé par notre laboratoire (32) et d'autres(16)) est à considérer sérieusement car elle expliquerait un certain nombre d'incohérences.

C'est l'évaluation histologique, réalisée dans un autre travail, qui permettra de donner les résultats définitifs de cette étude. Nous pourrons ainsi vérifier le type de lésion réalisée par écrasement, quantifier la régénération axonale et définir les vitesses de repousse spontanée et stimulée par le NT3.

Rapport-Gratuit.com

ANNEXES

Annexe 1 :

Electromyogramme et commentaires du premier examen électrophysiologique du chien L3C1 mettant en évidence une activité spontanée des muscles interosseux, biceps brachial, fléchisseurs du carpe mais également extenseur radial du carpe

Annexe 2 :

Electromyogramme et commentaires du deuxième examen électrophysiologique du chien L3C1 mettant en évidence une réponse motrice de faible amplitude et polyphasique du muscle biceps brachial, signe précoce d'un début de réinnervation par le nerf musculo-cutané

Annexe 3 :

Electromyogramme et commentaires du premier examen électrophysiologique du chien L3C3 mettant en évidence une réponse motrice monophasique d'amplitude correcte sur le muscle biceps brachial, signe d'une réinnervation fonctionnelle par le nerf musculo-cutané

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLAM W, LEE DG, NULSEN FE *et al.* The anatomy of the brachial plexus of the dog, *Anat. Rec.*, 1952, 114, 173
2. ANDERSON WD, ANDERSON BG *Atlas of canine anatomy*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1994, 1229p
3. ANSSELIN AD, FINK T, DAVEY DF Peripheral nerve regeneration through nerve guides seeded with adult schwann cells. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 1997, 23, 387-398
4. AUBERT L *Caractérisation macro et micro-anatomique du plexus brachial du chat*, Thèse Méd. Vét., Alfort, 2001
5. BARBACID M Neurotrophic factors and their receptors, *Current Opinion in Cell Biology*, 1995, 7, 148-155
6. BERTELLI JA, MIRA JC The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration, *Journal of neuroscience Methods*, 1995, 58, 151-155
7. BLOT S Electrodiagnostic des affections neuromusculaires, *Point Vét* , 1991, 23, 585-595
8. BONNARD C Biologie et régénération nerveuse. *Annales de Chirurgie de la Main*, 1989, 8, 285-288
9. BOULOUEDNINE M, ALLIEU Y Intercostal nerve transfer classification, *Chirurgie de la main*, 2001, 20, 136-137
10. BRAUND KG Peripheral nerve disorders. In : ETTINGER SJ, FELDMAN EC. *Textbook of veterinary internal medicine*. 4th ed., Philadelphia : WB Saunders, 1995, 701-726
11. BRIDGE PM, BALL DJ, MACKINNON SE, *et al.* Nerve crush injuries – a model for axonotmesis, *Experimental neurology*, 1994, 127, 284-290
12. BRINKER WO, PIERMATTEI DL, FLO GL *Manuel d'orthopédie et de traitement des fractures des petits animaux*, 2e édition, Editions du point vétérinaire, Maisons-Alfort, 1994, 560 p
13. BRUSHART TME Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons. *The Journal of Neuroscience*, 1988, 8(3), 1026-1031
14. CARON C, DANIEL LACOMBE M *Les traumatismes du Plexus Brachial chez les Carnivores Domestiques*, Thèse Méd. Vét., Alfort, 1997
15. CAROZZO C *Rapport intermédiaire du protocole expérimental portant sur la réparation des traumatismes du plexus brachial. Projet ET8-251*. Laboratoire de neurobiologie d'Alfort E.N.V.A. 1999
16. CHEN LE, SEABER AV, URBANIAK JR The influence of magnitude and duration of crush load on functional recovery of the peripheral nerve, *Journal of reconstructive microsurgery*, 1993, 9(4), 299-306

17. CHEN ZW, WANG MS Effects of nerve growth factor on crushed sciatic nerve regeneration in rats. *Microsurgery*, 1995, 16, 547-551
18. CHRISMAN CL Peripheral neuropathies. In: BOJRAB MJ. *Diseases mechanisms in small animal surgery*. 2nd éd. , Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 1158-1173
19. CONNELLY S Complete short-term correction of canine hemophilia A by in vivo gene therapy, *Blood*, 1996, 10, 3846-3853
20. CORNEFJORD M, SATO K, OLMARKER K *et al.* A model for chronic nerve root compression studies, *Spine*, 1997, 22(9), 946-957
21. CRAGG BG, THOMAS PK The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibres. *J. Physiol.*, 1964, 171, 164-175
22. CUVILLIEZ V *Réparation des lésions d'avulsion du plexus brachial au moyen des nerfs thoracodorsal et thoracique latéral controlatéraux*, DEA de Neurosciences, Faculté de médecine de Paris-Sud, 1999
23. DAHLIN LB, KANJE M Conditioning effect induced by chronic nerve compression. *Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg.*, 1992, 26, 37-41
24. DAI Y, SCHWARZ EM, GU D *et al.* Cellular and humoral immune responses to adenoviral vectors containing factor IX gene : tolerization of factor IX and vector antigens allows for long-term expression, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, 1401-1405
25. DE MEDINACELI L Functional consequences of experimental nerve lesions: effects of time, location, and extent of damage, *Experimental Neurology*, 1988, 100, 154-165
26. DE MEDINACELLI L, FREED WJ, WYATT RJ An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks, *Experimental neurology*, 1982, 77, 634-643
27. DECHANT G, BARDE YA Signalling through the neurotrophin receptor p75^{NTR}, *Current Opinion in Neurobiology*, 1997, 7, 413-418
28. DEREUX S *Etude de la réponse apoptotique lors d'infection hétérologues chez les adénovirus: rôle dans le maintien de la barrière d'espèce*. E.N.V.A.-INRA de génétique moléculaire et cellulaire, 2000, 48p.
29. DEZAWA M, MUTOH T, DEZAWA A *et al.* Putative gap junctional communication between axon and regenerating schwann cells during mammalian peripheral nerve regeneration, *Neuroscience*, 1998, 85(3), 663-667
30. DEZAWA M, MUTOH T, DEZAWA A *et al.* Tight junctions between the axon and Schwann cell during peripheral nerve system regeneration. *Neuro Report*, 1996, 7, 1829-1832
31. DICKELE G Neuropathies périphériques traumatiques, *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1994, 29(1), 9-21
32. DUPIRE NR *Favorisation de la repousse axonale après lésion du système nerveux périphérique chez le chien par utilisation du NT-3 délivré par thérapie génique. Validation du*

modèle et essai préliminaire avec un adénovirus délivrant de la β -galactosidase Thèse Méd. Vét. Alfort, 2001, 75p

33. EVANS HE, CHRISTENSEN GC *Miller's Anatomy of Dog*, 2ème édition, WB Saunders Company, Philadelphia, 1979,1181p
34. FINKELSTEIN DI, DOOLEY PC, LUFF AR Recovery of muscle after different periods of denervation and treatments. *Muscle & Nerve*, 1993, 16, 769-777
35. FUGLEHOLM K, SCHMALBRUCH H, KRARUP C Early peripheral nerve regeneration after crushing, sectioning, and freeze studied by electrodes in the cat. *The Journal of Neuroscience*, 1994, 14, 2659-2673
36. GATZINSKY KP Node-paranode regions as local degradative centres in alpha-motor axons. *Microscopy Research and Technique*, 1996, 34, 492-506
37. GRANIER EAH *Validation d'un nouveau modèle de compression nerveuse périphérique par un constricteur améroïde chez le rat* Thèse Méd. Vét. Alfort, 2001, 85p
38. GREWAL R, XU J, SOTEREANOS DG *et al.* Biomechanical properties of peripheral nerve. *Hand clinic*, 1996, 12, 195-204
39. GRILL R, MURAI K, BLESCH A *et al.* Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial fonctionel recovery after spinal cord injury, *The journal of neuroscience*, 1997, 17(14), 5560-5572
40. GUETTY R *The anatomy of the domestic animals*.5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1975,1095p
41. HAASE G, KENNEL P, PETTMAN B *et al.* Gene Therapy of Murine Motor Neuron Disease using adenoviral Vectors for Neurotrophic Factors, *Nature Medicine*, 1997, 3(4), 429-436
42. HARE GMT, EVANS PJ, MACKINNON SE *et al.* Walking track analysis: a long term assessment of peripheral nerve recovery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1992, 89, 251-258
43. HIRASAWA Y, SAIKI T, NAKAO Y *et al.* Regeneration of perineurium after nerve injury and autografting, *International Orthopaedics*, 1994, 18, 229-235
44. IDE C Peripheral nerve regeneration, *Neuroscience research*, 1996, 25, 101-121
45. ISLA A, BEJARANO B, MORALES C *et al.* , Anatomical and functional connectivity of the transected ulnar nerve after intercostal neurotization in cats, *J Neurosurg*,1999, 90, 1057-1063
46. KIYOTANI T, TERAMACHI M, TAKIMOTO Y *et al.* Nerve regeneration across a 25-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collagen tube : a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves, *Brain Research*, 1996, 740, 66-74
47. KLINE DG, HUDSON AR Basic considerations. *In : Nerve injuries*. Philadelphia: WB Saunders, 1995, 1-28

48. KRARUP C, LOEB GE, PEZESHKPOUR GH Conduction studies in peripheral cat nerve using implanted electrodes : II. The effect of prolonged constriction on regeneration of crushed nerve fibers. *Muscle & nerve*, 1988, 11, 933-944
49. LAVIEILLE S *Reconnexion motrice et sensitive après avulsion et réimplantation des racines dorsales et ventrales de la portion crâniale du plexus brachial chez le chien*, Thèse Méd. Vét., Alfort, 1997
50. LAVIEILLE S, MOISSONNIER P Traitement d'une avulsion du plexus brachial par réimplantation radiculaire chez un chaton, *Rec Med Vet*, spécial cas clinique, 1996, 273-279
51. LEE PG, ZHUO H, HELKE JH Axotomy alters neurotrophin and neurotrophin receptor mRNAs on the vagus nerve and nodose ganglion in the rat, *Molecular Brain Research*, 2001, 87, 31-41
52. MACKINNON SE, DELLON AL, HUNTER DA, Histologic assessment of nerve regeneration in the rat, *Plast. Reconstr. Surg.*, 1985, 75, 384-388
53. MACKINNON SE, DOOLABH VB, NOVACK CB *et al.* Clinical Outcome following nerve allografts transplantation, *Plast Reconstr Surg*, 2001, 107(6), 1419-1429
54. MACKINNON SE, NOVAK CB Nerve transfers. New options for reconstruction following nerve injury, *Hand Clin*, 1999, 15(4), 643-666
55. MATSUMOTO K, OHNISHI K, KIYOTANI T *et al.* Peripheral nerve regeneration across a 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid (PGA)-collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves, *Brain research*, 2000, 868, 315-328
56. MEEK MF ROBINSON PH, STOKROOS I *et al.* Electromicroscopical evaluation of short-term nerve regeneration through a thin-walled biodegradable poly(DLLA- ϵ -CL) nerve guide filled with modofod denatured muscle tissue, *Biomaterials*, 2001, 22, 1177-1185
57. MILLESI H, TERZIS J Nomenclature in peripheral nerve surgery. *Clinics in Plastic Surgery*, 1984, 11, 3-8
58. MIRA JC La régénération des fibres nerveuses périphériques. Cours de DEA, février 1998
59. MIRA JC Ramification axonale au cours de la régénération des fibres nerveuses périphériques. *Neurochirurgie*, 1982, 28, 77-82
60. MIRA JC Biologie de la régénération nerveuse *In* : TUBIANA. *Traité de chirurgie de la main*. Paris : Masson, 1986, 335-357
61. MOISSONNIER P *Restructuration de la Moelle Epinière et du Plexus Brachial du Chien Adulte*, Thèse de doctorat spécialité Neurosciences, Université René Descartes, PARIS V, 1996
62. MOISSONNIER P Vers un traitement chirurgical des avulsions radiculaires chez le chien et le chat, *Le point Vét*, 1996, 27(173), 981-984
63. MUSSEL P *Réparation des plaies des nerfs périphériques et récupération fonctionnelle: mise au point d'un modèle comportemental d'évaluation chez le rat*. Thèse Méd., Nancy, 1995

64. NARAKAS AO, HENTZ VR, Neurotization in brachial plexus injuries. Indication and results, *Clin Orthop*, 1988, 237, 43-56
65. NAVARRO X, VERDÚ E, BUTÍ M Comparison of regenerative and reinnervating capabilities of different functional types of nerve fibers. *Experimental Neurology*, 1994, 129, 217-224
66. NELSON RW, COUTO CG, BUNCH SE Disorders of peripheral nerves and the neuromuscular junction. In : *Small animal internal medicine*. 2nd ed. , Saint-Louis : Mosby, 1998, 1046-1058
67. OGDEN MA, FENG FY, MYCKATYN TM *et al.* Safe injection of cultured schwann cells into peripheral nerve allgrafts, *Microsurgery*, 2000, 20(7), 314-323
68. OORSCHOT DE, McLENNAN IS The trophic requirements of mature motoneurons, *Brain research*, 1998, 789, 315-321
69. PODHAJSKY RJ, MYERS RR A diffusion-reaction model of nerve regeneration, *Journal of neuroscience methods*, 1995, 60, 79-88
70. ROBERT C, VINCENT P Les cellules excitables : la cellule nerveuse. In : *Biologie et physiologie humaine*. Paris : Vuibert, 1997, 107-148
71. ROHRER DC, NILAVER G, NIPPER V *et al.* Genetically modified PC12 brain grafts : survivability and inducible nerve growth factor expression, *Cell transplantation*, 1996, 5(1), 57-68
72. ROSENBERG CD *Transfert par vecteur adénoviral du gène du facteur atrial natriurétique sur modèle canin: évaluation de plusieurs voies d'administration*. Thèse Méd. Vét. Alfort, 1998, n°49, 100
73. RUSSELL WC Update on adenovirus and its vectors, *Journal of General Virology*, 2000, 81, 2573-2604
74. SANTOS X, RODRIGO J, HONTANILLA B *et al.* Evaluation of peripheral nerve regeneration by nerve growth factor locally administred with a novel system, *Journal of Neuroscience Methods*, 1998, 85, 119-127
75. SIEGEL GJ, AGRANOFF BW, ALBERS RW *et al.* *Basic neurochemistry- Molecular and medical aspects*. 6th ed. Lippincot-Raven, 1999, 1183p
76. SJOBERG J, KANJE M, EDSTROM A Influence of non-neuronal cells on regeneration of the rat sciatic nerve. *Brain research*, 1988, 453, 221-226
77. SLATTER *Textbook of small animal surgery*. 2nd ed. , Philadelphia : Saunders company, 1985, 2362
78. SONDELL M, SUNDLER F, KANJE M Vascular endothelial growth factor is a neurotrophic factor which stimulates axonal outgrowth through the flk-1 receptor, *Eur. J. Neurosci.*, 2000, 12(12), 4243-4254

79. SUZUKI Y, TANIHARA M, OHNISHI K *et al.* Cat peripheral nerve regeneration across 50 mm gap repaired with a novel nerve guide composed of freeze-dried alginate gel, *Neuroscience Letters*, 1999, 259, 75-78
80. SWAIM SF Peripheral nerve surgery. *In: OLIVER JE , HOERLEIN BF , MAYHEUS IG .Veterinary neurology.* Philadelphia : WB Saunders Company, 1987, 493-499
81. TANTUWAYA VS, BAILEY SB, SCHMIDT RE *et al.* Peripheral nerve regeneration through silicone chambers in streptozocin-induced diabetic rats, *Brain Research*, 1997, 759, 58-66
82. VAN NESS JJ, Electrophysiological evaluation of traumatic forelimb paralysis of the dog, *Res. Vet. Sci.*, 1986, 40, 144-147
83. YIN Q, KEMP GJ, YU LG *et al.* Expression of schwann cell-specific proteins and low-molecular-weight neurofilament protein during regeneration of sciatic nerve rat treated with neurotrophin-4, *Neuroscience*, 2001, 105(3),779-783
84. YOSHII S, OKA M Peripheral nerve regeneration along collagen filaments, *Brain research*, 2001, 888, 158-162
85. YUKSEL F, KARACAOGLU E, GULER MM Nerve regeneration through side-to-side neurroraphy sites in a rat model: a new concept in peripheral nerve surgery, *Plast. Reconstr. Surg.*, 1999, 104(7), 2092-2099

SURNAME :

HIDALGO

Given name :

Antoine

SUMMARY :

After a peripheral nervous lesion, gene therapy shows new ways of supplementation in growth factor for regenerating axons. This study aims to evaluate axonal regrowth stimulation due to neurotrophin 3 after an experimental lesion of axonotmesis in two nerves of the brachial plexus in dog.

After a summary of the available data on peripheral nerves biology and on brachial plexus anatomy in dog , the author describes the principal traumatic lesions observed on the plexus and their possible treatment.

In a second part, the author presents the clinical and electrophysiological report of a experimental study based on 15 Beagle dogs. These dogs underwent an axonotmesis crush lesion of the left ulnar and musculo-cutaneous nerves. Three groups were made by sort: the dogs of the first group underwent injections of adenoviral vector delivering neurotrophin 3, those of the second group injections of plain adenoviral vector and those of the third group injections of sterile saline solution. Clinical and electrophysiological results do not allow to give a reliable evaluation of fonctional recovery and to show differences between the three groups. Only the histological survey, made in another work, should confirm the reliability of this study and allow to show a possible benefit of this supplementary therapy with a growth factor on axonal regeneration after experimental axonotmesis crush lesion.

This study describes the experimental protocol but the evaluation methods do not allow to determine the advantage of this way of gene therapy on experimental axonotmesis crush lesions of ulnar and musculo-cutaneous nerves in dog.

KEY WORDS :

Dog – brachial plexus – axonotmesis – Neurotrophin 3 – adenoviral vector

JURY:

President: Pr

Director: Pr MOISSONNIER

Assessor : Pr ELOIT

Guests : Dr CAROZZO

Author's Address :

Mr Antoine HIDALGO

52 rue de Lieusaint

77380 COMBS-LA-VILLE