VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2013 - Thèse n°

MISE AU POINT D'UN MODELE PRIMATE D'ATHEROSCLEROSE INDUIT PAR UN REGIME RICHE EN CHOLESTEROL

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 20 décembre 2013
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Randle William
Né le 13 février 1987
à Vénissieux

Liste des membres du corps enseignant du campus vétérinaire de VetAgro Sup

Civilité	Nom	Prénom	Unité pédagogique	Grade
M.	ALOGNINOUWA	Théodore	Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVÈS DE -OLIVEIRA	Laurent	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHÉLÉMY	Anthony	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	BELLI	Patrick	Pathologie morphologique animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
Mme	BELLUCO	Sara	Pathologie morphologique animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU--SMITH	Agnès	Équine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYÈRE	Pierre	Biotechnologies et pathologie de la r eproduction	Maître de conférences Contractuel
M.	BUFF	Samuel	Biotechnologies et pathologie de la r eproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	CACHON	Thibaut	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	CADORÉ	Jean-Luc	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET--MONFRAY	Karine	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	COMMUN	Loïc	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES R OCHES	Alice	Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DELIGNETTE--MULLER	Marie-Laure	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS-PESSON	Isabelle	Équine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur

Mme	FOURNEL	Corinne	Pathologie morphologique animaux de compagnie	Professeur
M.	FRANCK	Michel	Gestion des élevages	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Ridha	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	GENEVOIS	Jean-Pierre	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GRÉZEL	Delphine	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUÉRIN	Pierre	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	GUÉRIN - FAUBLÉE	Véronique	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences Stagiaire
M.	LACHERETZ	Antoine	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	LEBLOND	Agnès	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Équine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Équine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Pathologie morphologique animaux de compagnie	Professeur
Mme	MIALET	Sylvie	Santé Publique et Vétérinaire	Inspecteur en santé publique vétérinaire
Mme	MICHAUD	Audrey	Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
M.	MOUNIER	Luc	Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PÉPIN	Michel	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Pathologie morphologique animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT--NEVORET	Céline	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Stagiaire
Mme	PROUILLAC	Caroline	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	RÉMY	Denise	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	ROGER	Thierry	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	SÉGARD	Émilie	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIÉBAULT	Jean-Jacques	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Éric	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Pathologie morphologique animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

Remerciements

Au Professeur Guy ANNAT
De la faculté de médecine de Lyon
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.
Hommages respectueux.

Au Professeur Vanessa LOUZIER
Du campus Vétérinaire de VetAgro Sup
Pour m'avoir accompagné tout au long de cette thèse, pour avoir encadré ce travail avec rigueur et disponibilité. Pour tous vos conseils avisés qui m'ont été précieux dans la rédaction de cette thèse.
Mes sincères remerciements.

Au Professeur Denis GRANCHER
Du campus Vétérinaire de VetAgro Sup
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer à mon jury de thèse.
Mes sincères remerciements.

Au Docteur Hugues CONTAMIN
Du laboratoire CYNBIOSE
Pour m'avoir proposé ce sujet de thèse, m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire et avoir pris par à mon jury de thèse.
Sincères remerciements.

Au Docteur Clément GRANDIN
Pour ton soutien et tes conseils avisés au cours de la réalisation de cette thèse.

Au Docteur Emmanuelle CANET-SOULAS
Pour vos conseils, votre disponibilité et votre enthousiasme.

Au Professeur André SERUSCLAT, au Professeur Alain GELOEN,
Et au Docteur Guillaume CONDAMIN, pour vos contributions à cette thèse.

Table des matières

Liste des membres du corps enseignant du campus vétérinaire de VetAgro Sup *3*

Remerciements *5*

Table des illustrations *11*

Liste des abréviations *13*

Introduction *15*

PREMIERE PARTIE :17 L'ATHEROSCLEROSE, CONNAISSANCES ACTUELLES CHEZ L'HOMME ET APPORTS DES MODELES ANIMAUX **17**

I) L'ATHEROSCLEROSE **18**

A. Rappel : Structure artérielle saine 18
1. Structure des artères 18
2. Composition cellulaire 19
a Les cellules endothéliales 19
b Les cellules musculaires lisses 19
c Les macrophages 20
B. Histoire 20
1. Une maladie présente depuis plus de 3000 ans 20
2. Découverte et étymologie 20
3. Définition 21
C. Formation de l'athérosclérose 21
1. Les lipoprotéines, acteurs de l'athérogénèse 22
2. Mécanismes de l'athérogénèse 24
a Action des forces de cisaillement 24
b Infiltration des lipoprotéines dans l'intima 24
c Rôle des cellules de l'inflammation 25
d Formation des cellules spumeuses 26
e Chape fibreuse 27
f Evolution de la plaque 27
3. Différents stades lésionnels 28
a TYPE I : formation de cellules spumeuses 28
b TYPE II : accumulation de cellules spumeuses 28
c TYPE III : pré-athérome 29
d TYPE IV : Le centre lipidique 29
e TYPE V : fibro-athérome 29
f TYPE VI : athérosclérose compliquée 30
D. Facteurs de risques 32
1. Les facteurs à prédominance génétique 32
2. Les facteurs à prédominance environnementale 33
E. Les sites privilégiés chez l'homme 33
1. Les artères coronaires 34
2. Les artères cervicales et intracrâniennes 34
3. L'aorte thoracique descendante 34

4. L'aorte abdominale et les artères des membres inférieurs 34
5. Les artères rénales 35

II) LES MODELES ANIMAUX D'ATHEROSCLEROSE 35

A. L'athérosclérose naturelle chez les animaux 37
1. Les animaux étudiés 37
2. Les espèces concernées 38
3. Description et localisation des lésions 38
B. Comparaison de l'athérosclérose chez l'homme et l'animal 40
1. Comparaisons anatomiques 40
2. Les différences de sensibilité 41
a Habitudes alimentaires et lipoprotéines plasmatiques 41
b Conditions de vie et comportement 42
c Pression artérielle 43
d Facteur génétique 44
C. Les différents procédés existants pour induire des lésions 45
1. Modifications environnementales 45
a Lésions induites 46
b Le lapin 46
c Le porc 47
d Les primates 47
e Les oiseaux 48
f Les rongeurs 49
g Les carnivores domestiques 49
2. Sélection génétique 49
a Le lapin Watanabe Heritable Hyperlipidémic 49
b Le lapin de l'hôpital Saint Thomas 50
c Le rat SHR 50
d Le rat corpulent 50
e La souris C57BL/6 50
f Le porc miniature Yucatan 51
g Le porc IHLC 51
3. Modifications génétiques 51
a Technique d'induction des lésions 51
b Apports des modèles génétiquement modifiés 53
D. Choix de l'espèce 55
1. Modèle idéal 55
2. Avantages et inconvénients des différentes espèces 56
a Les oiseaux 56
b Les rongeurs 57
c Le lapin 57
d Les porcs 58
e Les primates non humains 58

III) DETECTION ET ANALYSE DE L'ATHEROSCLEROSE CHEZ LE SINGE 59

A. Paramètres biologiques 60
1. Le cholestérol total 60
2. Les lipoprotéines 61
3. Les triglycerides 62
B. Imagerie médicale 62

1. L'échographie 63
a Principes du fonctionnement de l'échographie 63
b Intérêts de l'échographie vasculaire 66
c Mesure de l'épaisseur intima-média 66
d Etude de la sténose 67
2. La Tomographie par Rayon X (TDM ou Scanner) 68
3. La Tomographie par émission de positon (TEP) 69
4. L'échographie intra-vasculaire 70
C. Histologie des lésions 70

DEUXIEME PARTIE : MISE AU POINT D'UN MODELE PRIMATE D'ATHEROSCLEROSE 73

I) MATERIEL ET METHODES 74

A. Les singes 74
B. L'alimentation 75
C. Le dosage des paramètres biochimiques 76
D. Imagerie 77
E. Histologie 77
F. Analyses statistiques 77

II) RESULTATS 78

A. Résultats biochimiques 78
1. Le cholestérol 78
a Evolution dans le temps 79
b Evolution selon les groupes et les sexes 81
2. Les lipoprotéines 83
a Le ldl 83
b Le HDL 86
c Rapport LDL et HDL 88
3. Les triglycérides 89
4. Corrélations avec le poids 91
5. Bilan biochimique des animaux en T3 91
B. Echographie 93
C. Histologie 96

III) DISCUSSION 99

IV) CONCLUSION ET PERSPECTIVES 102

CONCLUSION 105

Bibliographie : 109

ANNEXE 1 116

ANNEXE 2 117

ANNEXE 3 118

Table des illustrations

Liste des figures

Figure 1 : Structure de la paroi artérielle 18

Figure 2 : Evolution de l'athérosclérose au cours de la vie 21

Figure 3 : Structure d'une lipoprotéine 22

Figure 4 : Effet de l'oxydation des LDL sur l'inflammation 25

Figure 5 : Dommages causés par les cellules inflammatoires dans la paroi des artères 26

Figure 6: Schéma des différents stades lésionnels 31

Figure 7 : Evolution théorique des étapes de la formation de l'athérosclérose 32

Figure 8 : Comparaison des proportions de lipoprotéines entre différentes espèces animales et l'homme 41

Figure 9 : Modification de la sensibilité lors d'évolution du statut social 43

Figure 10 : présentation du mode B 64

Figure 11 : Présentation du mode TM 65

Figure 12: Principe de l'effet Doppler 65

Figure 13: Mesure de l'épaisseur intima-média d'une plaque d'athérome à l'échographie 67

Figure 14: Coupe histologique d'une plaque d'athérome 71

Figure 15 : Macaca fascicularis femelle 75

Figure 16 : Evolution du cholestérol plasmatique pour chaque individu 79

Figure 17 : Comparaison du cholestérol plasmatique entre T0 et T1 80

Figure 18 : Comparaison du cholestérol plasmatique entre T0 et T2 80

Figure 19 : Comparaison du cholestérol plasmatique entre T0 et T3 81

Figure 20 : Comparaison des différents groupes en T2 et T3 82

Figure 21 : Comparaison des femelles des 2 groupes 83

Figure 22 : Evolution du LDL totale 84

Figure 23 : Mise en évidence des différences du LDL entre les 2 groupes 85

Figure 24 : Mise en évidence des différences de LDL entre les femelles de deux groupes 86

Figure 25 : Evolution des concentrations de HDL..... 87

Figure 26 : Comparaison des valeurs du HDL entre T0 et T3 88

Figure 27: Evolution des proportions des lipoprotéines 89

Figure 28: Valeurs de la triglycéridémie en T0 et T2..... 90

Figure 29 : Comparaison des valeurs du triglycéride en T0 et T2..... 91

Figure 30: Visualisation de la plaque au niveau de la paroi de la carotide commune gauche du singe 101 93

Figure 31: visualisation de la plaque au niveau de la paroi du bulbe carotidien gauche du singe 108 94

Figure 32°: visualisation de la plaque au niveau de la paroi de l'artère iliaque externe gauche du singe 100 94

Figure 33 : Distribution des lésions visibles à l'échographie 95

Figure 34: Coupe de l'artère iliaque commune droite au niveau de la plaque d'athérome 97

Figure 35 : Nombreux macrophages spumeux présent sur une coupe de l'artère iliaque commune gauche 98

Figure 36 : Mise en évidence de la cacification et de la fibrose d'une plaque sur une coupe de l'artère iliaque commune gauche..... 98

Figure 37: Nombreux macrophages spumeux présent dans la sous couche endothéliale de l'intima de l'aorte thoracique 99

Liste des tableaux

Tableau I : Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines..... 23

Tableau II : Synthèse des lésions des principales espèces sauvages étudiées 39

Tableau III : Vitesse de propagation des ondes dans différents milieux..... 63

Tableau IV : Critères de sévérité d'une sténose au Doppler..... 68

Tableau V : Répartition des dosages..... 76

Tableau VI : Résultats des bilans biochimiques à 13 mois..... 92

Tableau VII : Récapitulatif des lésions observées à l'échographie 96

Liste des abréviations

ADN = Acide Désoxyribonucléique
ALT = Alanine Amino Transférase
Apo = Apolipoprotéine
AST = Aspartate Amino Transférase
CETP = Protéine de Transfert des Esters de Cholestérol
CREA = Créatinine
CML = Cellule Musculaire Lisse
EDTA = Acide Ethylène Diamine TétraAcétique
GGT = gamma-glutamyl transférase
GLU = Glucose
HDL = High Density Lipoprotein
IDL = Intermediate Density Lipoprotein
IHLC = Inherited Hyper-LDL Cholesterolemia
IRM = Imagerie par Résonance Magnétique
LCAT = Lécithine Cholestérol Acyl-Transférase
LDL = Low Density Lipoprotein
LDLox = Oxidized Low Density Lipoprotein
LDLR = Récepteur à LDL
LH = Lipase Hépatique
Lp(a) = Lipoprotéine a
LPL = Lipoprotéine Lipase
OMS = Organisation Mondiale de la Santé
PAL = Phosphatase Alcaline
PDGF = Platelet-Derived Growth Factor
SHR = Rat Spontanément Hypertendu
TEP = Tomographie par Emission de Positon
TPC = Cholestérol Plasmatique Total
VLDL = Very Low Density Lipoprotein

Introduction

L'athérosclérose présente un enjeu majeur pour la santé humaine. Il s'agit de la principale maladie occidentale du XXIème siècle. Ses complications, dont notamment l'athérothrombose, sont à l'origine de la majorité des accidents cardio-vasculaires. Le nombre d'accidents vasculaires cérébraux et de cardiopathies ischémiques (aussi appelées infarctus du myocarde) représentent l'une des premières causes de mortalité dans le monde avec respectivement 6,2 et 7 millions de décès recensés en 2011 sur un total de 53 millions de décès. En plus de son risque mortel, elle peut devenir une cause de handicap important. C'est une maladie qui est encore en pleine expansion. L'Organisation Mondiale de la Santé prédit d'ailleurs qu'elle constituera la première raison de handicap et de décès dans de très nombreux pays à la fin de la décennie.

De nouvelles populations sont touchées par cette maladie, notamment par leurs modes de vie qui évoluent rapidement. Le tabagisme et les déséquilibres alimentaires représentent deux grands facteurs de risque en pleine expansion dans de nombreux pays. Ces facteurs se développent notamment à grande vitesse dans les pays au développement rapide qui étaient jusqu'à présent protégés.

L'athérosclérose est une maladie complexe, multifactorielle et évolutive. Ses agents étiologiques restent à découvrir et certains mécanismes sous-jacents semblent non élucidés. L'athérosclérose nécessite encore des explorations importantes aussi bien pour améliorer la prise en charge des patients que pour prévenir le développement de la maladie ou ses récidives. Grâce aux travaux conséquents réalisés par les scientifiques jusqu'à présent, sa gestion s'améliore de jours en jours. Néanmoins, les chercheurs souhaitent de nouveaux outils pour la comprendre afin d'en réduire les conséquences.

C'est dans ce contexte que des modèles animaux ont été créés et utilisés. Dans l'étude de la maladie, différentes espèces ont démontré leurs intérêts. L'athérosclérose développée naturellement par les animaux reste très rare et les lésions observées sont souvent bien différentes des lésions humaines. L'obtention d'un modèle idéal, c'est-à-dire un modèle représentant le plus fidèlement la maladie humaine, est l'un des objectifs actuels des chercheurs. Ce dernier n'existe pas encore mais des modifications génétiques ou environnementales augmenteraient la sensibilité des sujets à l'athérosclérose et permettraient de s'en rapprocher. Le primate étant l'animal phylogénétiquement le plus proche de l'homme, il pourrait constituer un candidat de choix afin de réaliser un nouveau modèle animal de cette maladie.

Dans cette optique, la société **Cynbiose** à Marcy l'Etoile a mis au point un modèle primate d'athérosclérose sur des macaques crabier en les nourrissant avec un aliment riche en cholestérol.

Ainsi, dans la première partie de la thèse sera bibliographique. Dans un premier temps, je présenterai l'ensemble des mécanismes et des lésions associés à l'athérosclérose humaine. Puis je montrerai l'intérêt des modèles animaux dans la compréhension de la maladie ainsi

que les mécanismes permettant d'induire des lésions et enfin je listerai les différentes méthodes diagnostiques de la maladie chez l'homme et leurs utilisations dans les modèles animaux. Dans une seconde partie, je présenterai les premiers résultats expérimentaux obtenus avec la Cynbiose lors de la mise au point d'un nouveau modèle primate.

PREMIERE PARTIE :

L'ATHEROSCLEROSE, CONNAISSANCES ACTUELLES CHEZ L'HOMME ET APPORTS DES MODELES ANIMAUX

I) L'ATHEROSCLEROSE

A. Rappel : Structure artérielle saine

La fonction des artères est de transporter le sang du cœur jusqu'aux artérioles en conservant une pression suffisante et de le transformer pour que d'un flux pulsatile à haute pression, le sang arrive aux artérioles de manière continue. (BROCHERIOU I. , 2003)

1. *Structure des artères*

La structure de toutes les artères présente un modèle commun. La paroi est formée de trois tuniques correspondant respectivement, de la lumière vers l'extérieur de l'artère, à l'intima, la média et l'adventice (fig 1) :

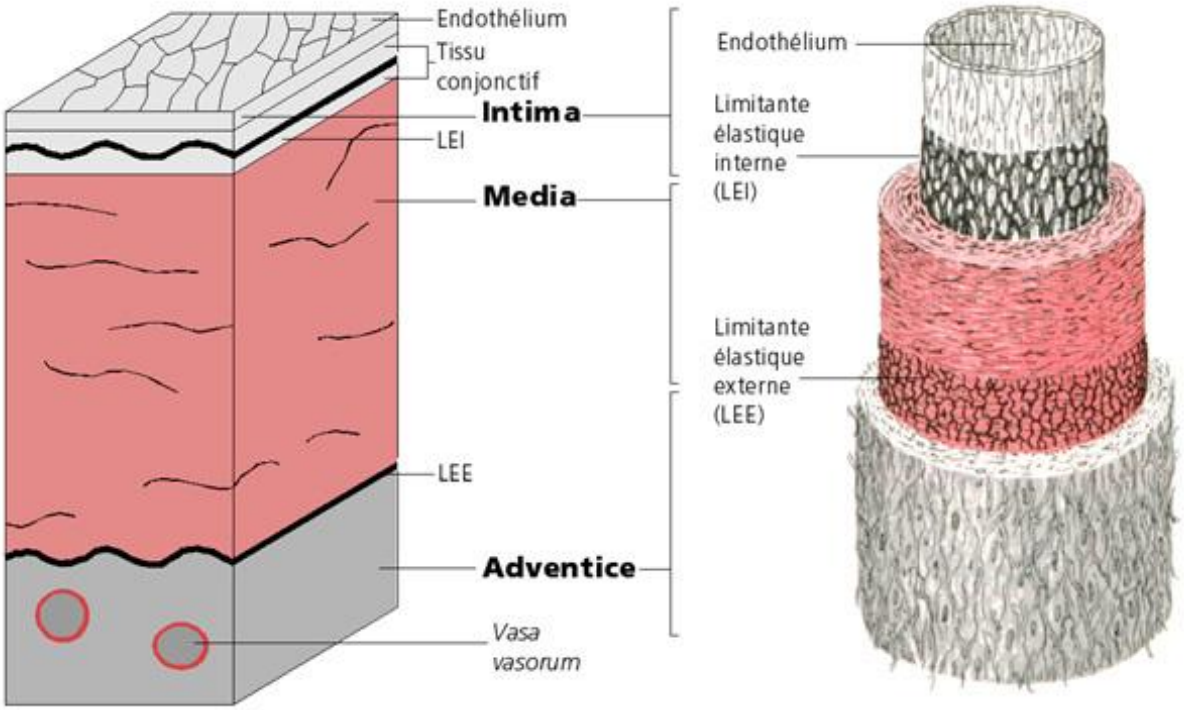


Figure 1 : Structure de la paroi artérielle (KAHLE W. et al., 1990)

Chaque tunique a une fonction propre dépendant de sa composition cellulaire et moléculaire ainsi que de son organisation.

Tout d'abord, l'intima possède un rôle prépondérant dans le fonctionnement des artères par sa situation entre le sang et les autres tuniques de l'artère. Elle permet notamment les échanges de métabolites et joue un véritable rôle dans le maintien de l'homéostasie vasculaire par l'intermédiaire de sa couche de cellules endothéliales.

Par ailleurs, la média est constituée de cellules musculaires lisses et d'élastine qui lui permettent d'assurer sa fonction hémodynamique de contraction ou de dilatation.

L'adventice est quant à elle formée d'un tissu conjonctif peu organisé riche en collagène et en fibres élastiques. Elle va permettre de fixer les artères aux organes environnants.

Enfin, des vaisseaux, les vasa vasorum, situés dans l'adventice vont permettre d'irriguer celle-ci ainsi que la partie externe de la media.

A noter que les différentes tuniques vont parfois être séparées par des lames d'élastines appelées limitante élastique externe ou interne selon leur localisation. (KAHLE W. et al., 1990, BROCHERIOU I. , 2003)

2. *Composition cellulaire*

Trois types cellulaires sont prédominants dans la paroi des artères, il s'agit des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses et des macrophages.

a Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales sont situées au niveau de l'intima et forment une couche continue en contact avec le sang. Perméables à divers nutriments ou autres éléments plasmatiques de petites tailles, elles assurent des échanges avec le sang. Parmi leurs multiples effets physiologiques, leur activité anti thrombotique est permise par la production de différentes protéines inhibitrices de la coagulation ainsi que par la présence du glycocalyx à leur surface qui limite l'agrégation plaquettaire. Elles jouent un rôle important dans l'inflammation en produisant des cytokines et en permettant l'adhésion des leucocytes par l'intermédiaire de molécules d'adhésion. (KAHLE W. et al., 1990, BROCHERIOU I. , 2003)

b Les cellules musculaires lisses

Les cellules musculaires lisses sont principalement localisées au niveau de la média des artères. Du fait de leurs propriétés contractiles, elles assurent un tonus vasculaire adapté aux conditions physiologiques du patient. Elles possèdent également des propriétés sécrétrices car elles élaborent la matrice extracellulaire (en produisant notamment du collagène, de l'élastine et des protéoglycanes) et assurent la synthèse de nombreuses molécules à fonction informative et intercellulaire. (KAHLE W. et al., 1990, BROCHERIOU I. , 2003)

Par ses deux propriétés, les cellules musculaires lisses sont considérées comme étant multipotentes car elles présentent des modulations structurales et fonctionnelles selon les conditions environnementales dans lesquelles elles se trouvent. Leur capacité à évoluer d'un stade fonctionnel à un autre, aussi appelée dédifférenciation, rentre dans le mécanisme physiopathologique de l'athérosclérose (Thierry et al., 2003).

c Les macrophages

Suite à une modification de leur environnement, les cellules endothéliales vont exprimer des molécules d'adhésion grâce auxquelles les monocytes apportés par le sang intègrent la paroi vasculaire et se différencient en macrophages. Ils se disséminent alors dans l'intima des artères. Ils jouent un rôle prépondérant dans la réponse immunitaire et inflammatoire de la paroi des artères. Ils synthétisent de nombreuses molécules d'importance dans l'athérosclérose. En particulier, des métalloprotéinases (MMP) qui dégradent la matrice extracellulaire et des facteurs de croissance pour les autres cellules de la paroi. (KAHLE W. et al., 1990, BROCHERIOU I. , 2003)

B. **Histoire**

1. Une maladie présente depuis plus de 3000 ans

L'athérosclérose est une maladie qui touche les Hommes depuis des millénaires. En effet, au début du XXème siècle, Sir M.A. RUFFER, suite à l'analyse de tissus de momies, découvre que les égyptiens souffraient déjà il y a 3000 ans de lésions vasculaires comparables à ce que l'on définie maintenant comme étant de l'athérosclérose. On ne sait pas pourquoi la maladie était déjà aussi répandue dans l'Egypte ancienne car le mode de vie était alors nettement différent de celui d'aujourd'hui avec un régime alimentaire pauvre en viande et sans tabac. Seul le stress de la vie quotidienne de l'époque semble pouvoir expliquer la présence de cette maladie. (PAGE I.H. , 1954, TEDGUI A. and J., 2003)

2. Découverte et étymologie

La première personne à avoir réalisé une description anatomopathologique complète de la plaque athéroscléreuse est Antonio SCARPA en 1804 lors de son travail sur l'anévrysme artériel (FRANCK M. et al., 2011). La dénomination de la maladie n'a cessé d'évoluer jusqu'à ce que F. MARCHAND utilise le terme athérosclérose cent ans plus tard. Ce terme reflète alors la dualité lésionnelle caractérisée par ses deux composantes : (TEDGUI A. and J., 2003, VASTESAEGER M. and R., 1962)

- «**athérome**» : dérivé du grec «*α΄θη΄ρη*» traduit par bouillie et «*ω΄μα΄*» qui signifie **tumeur**. Ces termes caractérisent la lésion comme étant locale et riche en **lipides**.

- «**sclérose**» : souligne le processus **fibrosant** de la lésion

3. *Définition*

En 1958, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini l'athérosclérose comme étant « *une combinaison variable de remaniements de l'intima des artères de moyenne et grand calibre, consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires, en association avec des changements de la média*. » (Organization, 1958)

Depuis, la définition a évolué car elle ne caractérisait qu'un seul type de lésion, alors que l'on a découvert par la suite que la maladie est évolutive. Cependant, elle présente comme intérêt de faire ressortir quelques éléments importants. En effet, l'athérosclérose est une **maladie inflammatoire chronique** qui consiste en une **infiltration** de nombreux éléments et notamment de **lipides** au niveau de la **paroi des grosses artères** et plus particulièrement de l'intima avec des répercussions sur la media à l'origine d'une **sténose** plus ou moins importante de la lumière des vaisseaux. Elle apparait très tôt chez l'homme, dès l'enfance, et évolue progressivement avec l'âge (fig 2). Sa progression dépend de **multiples facteurs** environnementaux et génétiques. (BRUNEVAL P., 2003)

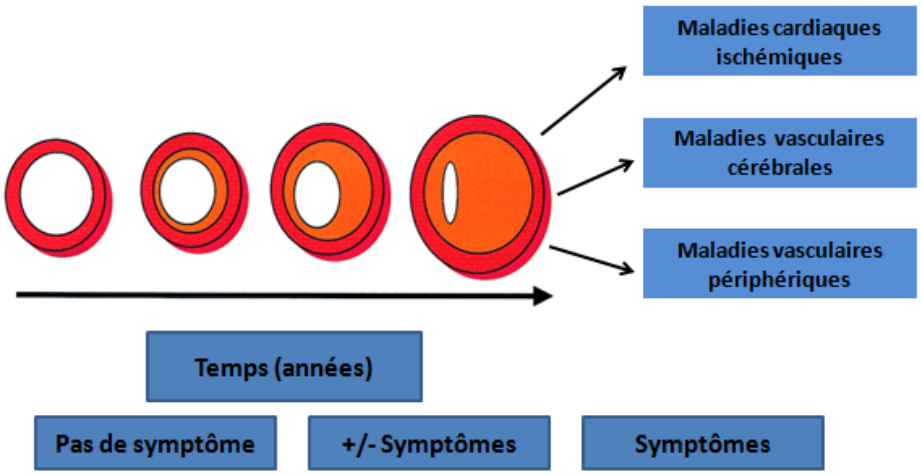


Figure 2 : Evolution de l'athérosclérose au cours de la vie
(Libby, 2000)

C. **Formation de l'athérosclérose**

L'athérosclérose est une maladie multifactorielle. Pour comprendre les mécanismes de sa formation et les lésions qui en découlent, il est nécessaire de connaitre les éléments principaux de leur formation : les lipoprotéines.

1. *Les lipoprotéines, acteurs de l'athérogénèse*

Les lipides constituent une famille de molécules nécessaire au bon fonctionnement de toutes les cellules de l'organisme. Les lipides nécessaires à l'organisme proviennent principalement de l'alimentation. Elles doivent donc être ingérées au niveau de l'intestin et transportées dans l'organisme. Suite à leur absorption au niveau intestinal et pour leur distribution, ces molécules doivent être véhiculées car elles sont hydrophobes et donc insolubles dans les milieux aqueux dont le sang. Le transport des lipides est ainsi permis par la présence de lipoprotéines. Ces ensembles moléculaires complexes constitués à la fois d'éléments hydrosolubles et liposolubles leur permettent de circuler dans les liquides aqueux de l'organisme et de transporter des lipides tels que le cholestérol non estérifié, les esters de cholestérol, les triglycérides et les phospholipides. La partie protéique des lipoprotéines est représentée par les apolipoprotéines. Celles-ci permettent de stabiliser l'ensemble, de cibler des lipides des tissus où elles sont absorbées ou produites, vers les tissus de stockage, de transformation ou d'utilisation (fig3).

Les lipoprotéines constituent ainsi des éléments essentiels dans le métabolisme des lipides de l'organisme. Le cholestérol transporté par les lipoprotéines constitue d'ailleurs un facteur hautement prédictif du risque cardiovasculaire, d'où son importance (LAGROST L. et al., 2003) (Steinberg, 1987).

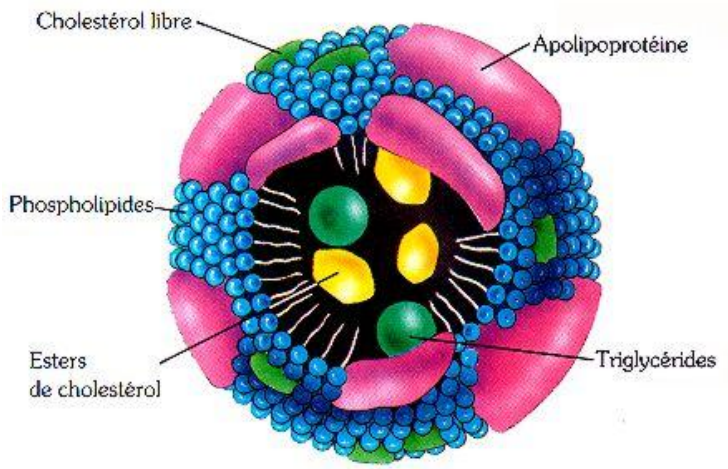


Figure 3 : Structure d'une lipoprotéine
(http://www.prevention.ch/lhyperlipedemie.htm)

La famille des lipoprotéines peut être divisée en cinq grandes populations différentes ayant des caractéristiques physiques et chimiques propres. Cette division est principalement fondée sur la densité des différentes lipoprotéines (Gofman et al., 1949). Les différentes populations de lipoprotéines ne sont pas stables, elles subissent des remaniements constants durant leur transit dans le système vasculaire. Les lipoprotéines vont jouer un rôle important

dans les mécanismes de l'athérosclérose. Les cinq populations principales de lipoprotéines ainsi que leurs corrélations avec l'incidence des maladies cardiovasculaires sont répertoriées dans le tableau ci-dessous (tab I):

Tableau I : Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines (LAGROST L. et al., 2003)

Type de lipoprotéine	Densité (g/mL)	Taille	Principales apolipoprotéines	Corrélation des incidences des maladies cardio-vasculaire
Chylomicrons	0,93	75 - 1200	B48, E, C	Positive
VLDL	0,93 - 1,006	30-80	B100, E, C	Positive
IDL	1,006 - 1,019	27-35	B100, E	Positive
LDL	1,019 – 1,063	18-27	B100	Positive
HDL	1,063 – 1,250	< 7-12	AI, AII, C	Négative
Lp(a)	1,040 – 1,115	25	B100	Positive

VLDL = Very Low Density Lipoprotein; IDL = Intermediate Density Lipoprotein; LDL = Low Density Lipoprotein; HDL = High Density Lipoprotein; Lp(a) = Lipoprotéine a

Les lipoprotéines n'ont pas toutes la même influence sur les risques cardiovasculaires et notamment sur les mécanismes de l'athérosclérose. Les LDL et les HDL ont un rôle particulier dans l'athérosclérose :

- Les **LDL** (Low Density Lipoprotein ou lipoprotéine β) sont dirigées vers les tissus qui récupèrent le cholestérol. Etant très riches en cholestérol et esters de cholestérols, elles perturbent le fonctionnement cardiovasculaire en étant notamment considérées comme très athérogènes.

- Les **HDL** (High Density Lipoprotein ou lipoprotéine α) sont synthétisées au niveau du foie en un précurseur des HDL, qui va se charger progressivement en cholestérol par l'intermédiaire des VLDL et des LDL circulants. Les HDL ont pour rôle de récupérer le cholestérol en excès pour le restituer au foie qui le dégradera en acide biliaire. Elles sont considérées comme étant athéroprotectrices.

2. *Mécanismes de l'athérogénèse*

a Action des forces de cisaillement

Des forces s'appliquent en permanence sur les parois des vaisseaux. Celles-ci, appelées forces de cisaillement, permettent une homéostasie de l'endothélium. Les forces de cisaillement se définissent comme les forces tangentielles provenant du frottement du sang qui coule sur la surface endothéliale de la paroi des artères. Elles dépendent de la viscosité du sang et du gradient spatial de la vélocité du sang au niveau de la paroi artérielle. Le degré de turbulence exercé par le sang qui coule est un déterminant important des forces de cisaillement locales.

Il a été démontré que les sites principalement concernés par l'athérosclérose subissent des contraintes hémodynamiques particulières dans les zones où le flux sanguin est turbulent. En effet, alors qu'un flux laminaire, c'est-à-dire organisé et qui survient en couche, provoque des forces de cisaillement élevées ; un écoulement turbulent où le flux sanguin va dans diverses directions engendre de faibles forces de cisaillement.

Les zones concernées par l'athérosclérose subiront des contraintes intermittentes, dans des zones de flux turbulent, qui vont être à l'origine d'un remaniement des cellules endothéliales et de leur activation. (ROCCA A. and J.C., 2007)

Suite aux modifications cellulaires, la production de monoxyde d'azote, puissant vasodilatateur, est atténuée, celle de prostaglandine chute alors que celle de l'endothéline augmente favorisant ainsi la vasoconstriction.

En réponse à la baisse des forces de cisaillement, les cellules musculaires lisses se multiplient. Ces modifications sont à l'origine d'une vasoconstriction, d'une augmentation de la perméabilité membranaire, d'une diminution de l'effet antiagrégant plaquettaire et d'une activation des processus inflammatoires avec notamment production de molécules d'adhésion favorisant l'entrée dans la paroi vasculaire de cellules inflammatoires. (CUNNINGHAM and GOTLIEB, 2005, Patrizia Nigro, 2011, HANSSON, 2005)

b Infiltration des lipoprotéines dans l'intima

Les modifications liées aux faibles forces de cisaillement vont favoriser l'entrée des LDL dans la paroi de l'artère. Celles-ci vont s'accumuler dans l'espace sous endothéliale. **Il s'agit de la cause majeure de la formation de l'athérosclérose**. Cette accumulation résulte d'un déséquilibre entre le flux rentrant et le flux sortant, lié à des interactions entre les LDL et les constituants de la paroi. En cas d'hypercholestérolémie, les LDL s'accumulent dans l'espace sous intimal en raison de la baisse de leur taux de dégradation (Schwenke and Carew, 1989). Les LDL piégées dans la paroi des artères vont subir des modifications oxydatives (LDLox) ou enzymatiques et ainsi développer des propriétés pro-athérogènes. (TEDGUI A. and J., 2003, FRANCK M. et al., 2011, Steinberg, 1987)

c Rôle des cellules de l'inflammation

Dans les conditions physiologiques, les leucocytes n'adhèrent que rarement à l'endothélium artériel. Cette interaction n'est rendue possible que grâce à des modifications de l'adhésivité endothéliale impliquant l'expression de récepteurs endothéliaux. La présence des LDLox au sein de la paroi va augmenter la synthèse des molécules d'adhérence des cellules inflammatoires par les cellules de l'endothélium. Ainsi, des monocytes et des lymphocytes T circulant vont adhérer à l'endothélium activé et pénétrer dans l'intima des vaisseaux. (fig 4).

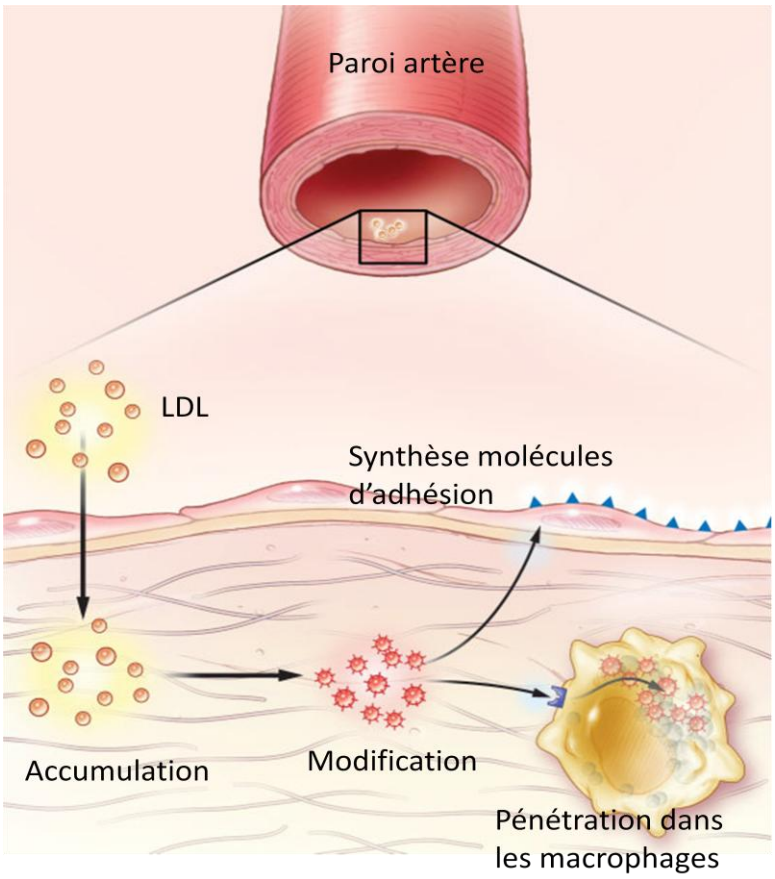


Figure 4 : Effet de l'oxydation des LDL sur l'inflammation
(HANSSON, 2005)

Les monocytes se différencient alors en macrophages et vont envahir la paroi des vaisseaux en se multipliant. Les LDL oxydées sont reconnues par les récepteurs scavenger macrophagiques. Les macrophages vont capter les LDL et former des cellules spumeuses. Les lymphocytes T stimulés par les macrophages vont sécréter des cytokines à l'origine de l'apoptose des macrophages provoquant la formation d'un centre nécrotique. L'inflammation sera auto-entretenue par la libération de radicaux libres par ces macrophages (fig 5). (HANSSON, 2005, LIBBY et al., 2002)

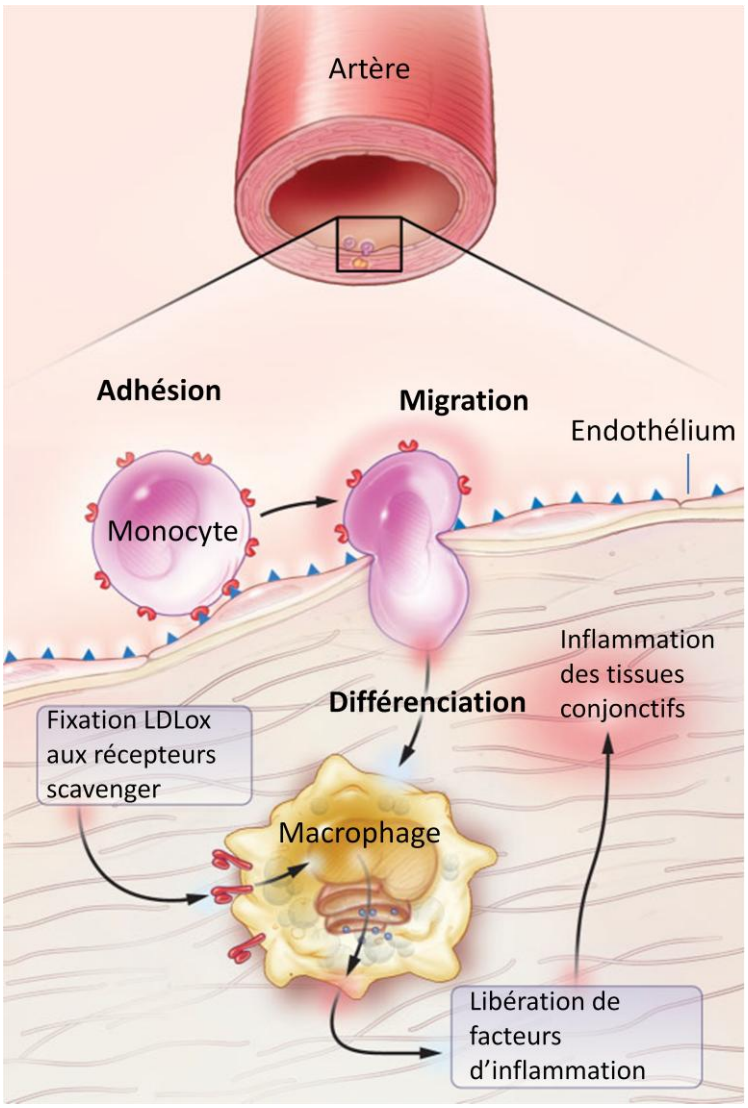


Figure 5 : Dommages causés par les cellules inflammatoires dans la paroi des artères (HANSSON, 2005)

d Formation des cellules spumeuses

Comme nous l'avons vu, les macrophages présents dans la paroi vont synthétiser des récepteurs Scavenger qui vont permettre l'internalisation des LDLox dans la cellule. Contrairement aux récepteurs spécifiques des LDL, les récepteurs scavenger ne sont pas régulés par le contenu intra cellulaire en cholestérol. Par ailleurs, les macrophages ne sont pas capables de dégrader les LDL oxydés intégrés par la voie des récepteurs scavenger. Ce phénomène conduit donc à une accumulation considérable et non contrôlée de cholestérol dans les macrophages de la paroi artérielle. Cette dernière est à l'origine de la transformation des macrophages en cellules spumeuses.

Dans un second temps, les cellules musculaires lisses de la média, après dédifférenciation et migration, vont aussi accumuler des LDLox et se modifier en cellules

spumeuses. Celles ci vont s'accumuler dans la paroi et former des stries lipidiques. Lors de lésions avancées, la quantité de LDL présentes peut dépasser les capacités de stockage des cellules spumeuses. Elles vont alors s'accumuler dans le milieu extracellulaire au cœur de la plaque. Lorsque leur quantité devient importante, elles peuvent alors se regrouper en un centre lipidique, ou centre athéromateux, composé essentiellement de cholestérol, d'ester de cholestérol et de débris cellulaires. (Steinberg, 1987, TEDGUI A. and J., 2003)

e Chape fibreuse

La plaque athéromateuse adulte se caractérise par la formation d'une chape fibro-musculaire qui isole le centre lipidique de la lumière artérielle. Différents facteurs (notamment des PDGF) sécrétés par les cellules inflammatoires et endothéliales suite à leur stimulation sont à l'origine d'une dédifférenciation des cellules musculaires lisses (CML) ainsi que de leur migration. (TEDGUI A. and J., 2003, FRANCK M. et al., 2011) Celles-ci perdent leur phénotype contractile pour adopter un phénotype sécrétoire après leur migration depuis la média jusqu'à l'intima au travers de la limitante élastique externe. Les CML ainsi modifiées expriment de faibles quantités de protéines contractiles (myosine et actine). Ces cellules ont un fort pouvoir de prolifération et de sécrétion. Elles expriment des récepteurs scavenger qui participent à leur différenciation en cellules spumeuses. C'est cette multiplication des CML et la synthèse de la matrice extracellulaire par les CML qui forment une chape fibreuse autour du cœur lipidique (FRANCK M. et al., 2011, Raines and Ross, 1993). L'intégrité de la chape fibreuse est un facteur déterminant de la stabilité des plaques d'athéromes.

f Evolution de la plaque

L'évolution de la plaque est un phénomène lent se déroulant sur plusieurs années. Le volume des plaques est à l'origine d'un remodelage vasculaire. Elles se développent longtemps sans modifier le calibre des artères. La protrusion de la plaque dans la lumière est à l'origine d'une augmentation des forces de frottement. Ces modifications sont à l'origine d'un accroissement des surfaces des limitantes élastiques permettant ainsi de rétablir la surface de la lumière du vaisseau et d'élargir celui-ci. Ce phénomène est appelé remodelage vasculaire excentrique (ALLAIRE E. , 2003). Ce mécanisme permet un équilibre entre la progression de la plaque et le maintien de la lumière du vaisseau. Des sténoses apparaissent lorsque ce mécanisme compensatoire est dépassé, c'est-à-dire lorsque la plaque occupe plus de 40% de la surface de la lumière du vaisseau. (ALLAIRE E. , 2003).

D'autres formes de remodelage ayant a priori des conséquences néfastes ont aussi été décrites. Le remodelage constrictif est l'inverse du remodelage compensateur, avec une diminution de calibre du vaisseau en regard d'une plaque qui n'aurait pas eu en elle même le potentiel d'entraîner une sténose significative ; les mécanismes exacts qui conduisent au remodelage constrictif sont imparfaitement connus mais font vraisemblablement intervenir des phénomènes de fibrose au niveau de l'adventice et/ou de la média.

Dans certains cas, les segments athéroscléreux ne vont pas évoluer vers la sténose mais au contraire vers la formation d'anévrysmes qui pourront dans certaines conditions et en fonction de leur localisation se rompre et entraîner des complications très graves. Les mécanismes physiopathologiques mis en jeu ne sont pas encore tous élucidés mais on sait que le développement des anévrysmes nécessite une destruction et une désorganisation des éléments structuraux de la matrice extracellulaire et surtout des fibres d'élastine.

L'évolution des plaques se fait généralement vers un développement progressif dans le temps. Il semble pourtant exister un phénomène inverse. La régression des lésions précoces induites chez l'animal par des régimes hypercholestérolémiques est possible et il en est vraisemblablement de même pour les lésions précoces chez l'homme. Nous pouvons tout de même nous demander si les lésions plus avancées (plaques adultes) peuvent aussi régresser. Cette évolution semble être envisageable mais sur une longue période (plusieurs années) et bien entendu en réponse à un excellent contrôle des facteurs de risque et le plus souvent du fait de la prescription d'un traitement de prévention secondaire. En effet, des régressions significatives ont ainsi été observées après prescription de traitements hypocholestérolémiants (tout particulièrement de la classe des statines).

3. *Différents stades lésionnels*

L'avancée des lésions est progressive et les étapes sont très imbriquées les unes avec les autres. Cependant, il a semblé important de définir des stades lésionnels afin de mesurer l'avancement des lésions. C'est pourquoi l'American Heart Association a défini six types lésionnels successifs fondés sur les travaux de STARY en 1995 (fig 6). (BRUNEVAL P. , 2003)

a TYPE I : formation de cellules spumeuses

Il s'agit de la lésion initiale qui apparait dans les premières années de vie de l'homme. Elle est caractérisée par la présence d'une accumulation de lipides dans le cytoplasme des cellules spumeuses, isolées dans l'intima des artères de gros et moyen calibre. Ces lésions sont plus fréquemment trouvées chez le sujet jeune. A ce stade là, les lésions ne sont que microscopiques et détectables uniquement par immunohistochimie avec des anticorps anti-macrophages. (Stary H. C. and al., 1994) (BRUNEVAL P., 2003) (FRANCK M. et al., 2011)

b TYPE II : accumulation de cellules spumeuses

Le type II se caractérise par une accumulation d'un plus grand nombre de cellules spumeuses dans l'intima des artères. Des cellules musculaires lisses vont alors aussi accumuler des lipides dans leur cytoplasme. Ces cellules s'organisent en petits amas dans la

couche sous endothéliale de l'intima et forment les stries lipidiques. La lésion est alors visible à l'œil nu et forme des lignes, des points ou des plaques de couleur jaune. Cette phase se déroule aussi lors des dix premières années de la vie chez l'homme. (Stary H. C. and al., 1994) (FRANCK M. et al., 2011)(BRUNEVAL P., 2003)

c TYPE III : pré-athérome

Ce stade débute en général un peu plus tardivement, c'est-à-dire entre dix et vingt ans chez l'homme. Ce type est différent du précédent par la présence de lipides qui s'accumulent au niveau extracellulaire. Il s'agit d'une étape intermédiaire pré-athérome. (Stary H. C. and al., 1994) (FRANCK M. et al., 2011)

Il est important de noter que ces trois premiers types sont considérés comme des lésions initiales et aucune manifestation clinique n'est associée. Les trois types suivant se déroulent en général plus tardivement dans la vie de l'homme, globalement à partir de quarante ans et peuvent être associés à des manifestations cliniques.

d TYPE IV : Le centre lipidique

Le type IV se caractérise par la formation d'un centre lipidique, ou centre athéromateux, ayant comme caractéristique une accumulation de lipides au niveau extracellulaire. Les lipides s'accumulent sous les cellules spumeuses de surface. Cette zone sera plus pauvre en cellules et ne sera pas entourée par un tissu fibrosé. Elle sera constituée principalement par quelques macrophages et des cristaux de cholestérol. Il s'agit de la première lésion qui peut être à l'origine d'un événement thrombotique. (Stary H. C. and al., 1994) (FRANCK M. et al., 2011) (BRUNEVAL P. , 2003)

e TYPE V : fibro-athérome

Il s'agit de la plaque fibrolipidique typique de l'athérosclérose correspondant à la définition de l'OMS citée plus haut. Elle est constituée en son centre de cellules spumeuses, de lipides extracellulaires et de cellules géantes. Elle se différencie du type IV par la chape fibreuse qui l'entoure. Celle-ci est constituée d'une matrice extracellulaire abondante et de cellules musculaires lisses en majorité. Elle forme une plage jaunâtre plus ou moins étendue et saillante. Les plaques formées peuvent confluer en cas d'athérosclérose sévère. Le revêtement continu formé par les cellules endothéliales assure l'intégrité de la lésion et l'absence de complication au niveau de la plaque. Les volumes relatifs du centre lipidique et de la chape fibreuse sont variables. Plus le centre est volumineux et la chape fibreuse fine, plus la plaque sera vulnérable et donc à risque. Ce type lésionnel peut être à l'origine d'une sténose importante de la lumière du vaisseau et l'intérêt clinique de celle-ci repose justement sur le degré de sténose. Elle ne sera jamais significative dans la lumière aortique mais peut avoir des

effets cliniques sur des artères de plus petit calibre comme la carotide interne et les coronaires épicardiques. (FRANCK M. et al., 2011)

On peut noter trois sous types de ce type V : celle décrite ci-dessus (Va), une lésion partiellement calcifiée (Vb) et une lésion sans centre lipidique (Vc). (FRANCK M. et al., 2011)

f TYPE VI : athérosclérose compliquée

Il s'agit de la lésion suite à la complication d'une plaque de type IV ou V. La morbidité et la mortalité dues à l'athérosclérose sont largement liées à l'évolution des plaques de type IV ou V en plaque VI. L'évolution des plaques se produit par un phénomène hémorragique ou thrombotique intra plaque. Suite à cette complication, la cicatrisation de la lésion pourra être à l'origine d'une augmentation de la sténose par augmentation de volume {P., 2003, Anathomopathologie de l'athérosclérose humaine}. Une fois cicatrisée, la lésion redevient de type V et est alors plus stable. Les complications sont à l'origine de conséquence d'apparition brutale telle que l'infarctus du myocarde, l'angor instable ou la mort subite. Les plaques qui se compliquent ne sont pas forcément celles qui sont les plus sténosantes. Ainsi, il est difficile de les détecter par imagerie médicale. (Stary H. C. and al., 1995)

Il existe trois types de complications qui sont à l'origine des trois sous-types au type VI :

- **Le sous-type VIa** correspond à une rupture de plaque caractérisée par une perte de substance à la surface de celle-ci à l'origine d'une **ulcération**. Elle peut être très superficielle comme très profonde, pouvant aller jusqu'à emporter une partie du centre lipidique. (BRUNEVAL P., 2003)

- **Le sous-type VIb** implique la formation d'une **hémorragie** à l'intérieur de la plaque qui est à l'origine d'une augmentation rapide de la taille de la plaque. Cette collection liquidienne évolue par une détersion macrophagique et formation de matrice extracellulaire dans la collection. Ces phénomènes sont à l'origine d'une progression de la plaque. (Stary H. C. and al., 1995, FRANCK M. et al., 2011)

- **Le sous-type VIc** correspond à la complication majeure de l'athérosclérose, la **thrombose**. Elle se produit lorsqu'une plaque a perdu son endothélium. Cette thrombose peut provoquer une occlusion de vaisseau de moyen calibre ou être juste murale, c'est-à-dire que de la lumière persiste à côté du thrombus. Le thrombus se caractérise histologiquement par son aspect stratifié et de couleur noirâtre. Il évolue vers un tissu conjonctif qui adhère à la paroi où il se trouve. (Stary H. C. and al., 1995, FRANCK M. et al., 2011)

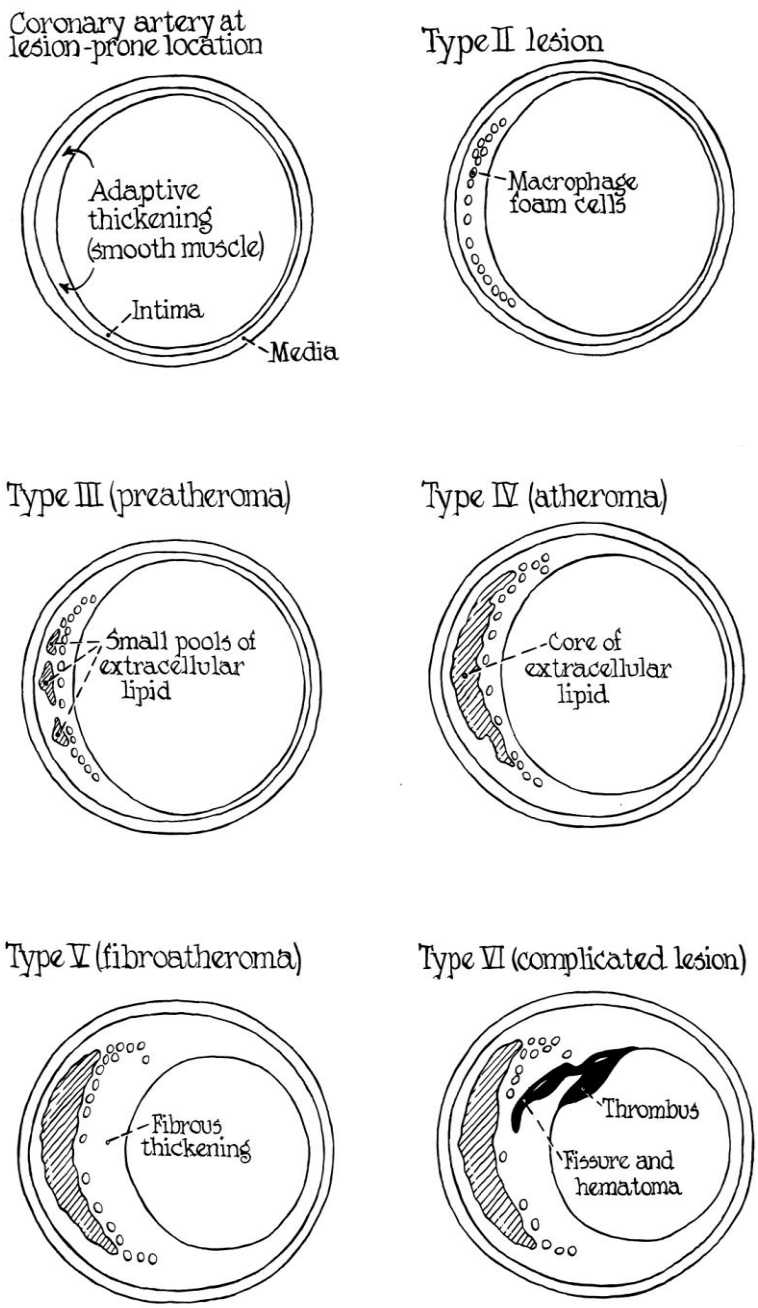


Figure 6: Schéma des différents stades lésionnels
(Stary H. C. and al., 1995)

Il est important de noter que l'évolution linéaire d'un type lésionnel au suivant ne fait pas consensus au sain des auteurs. Les lésions avancées ne seraient par forcément la complication de lésions initiales mais l'évolution pourrait être plus complexe entre les stades (fig 7). (Virmani R. and al., 2000)

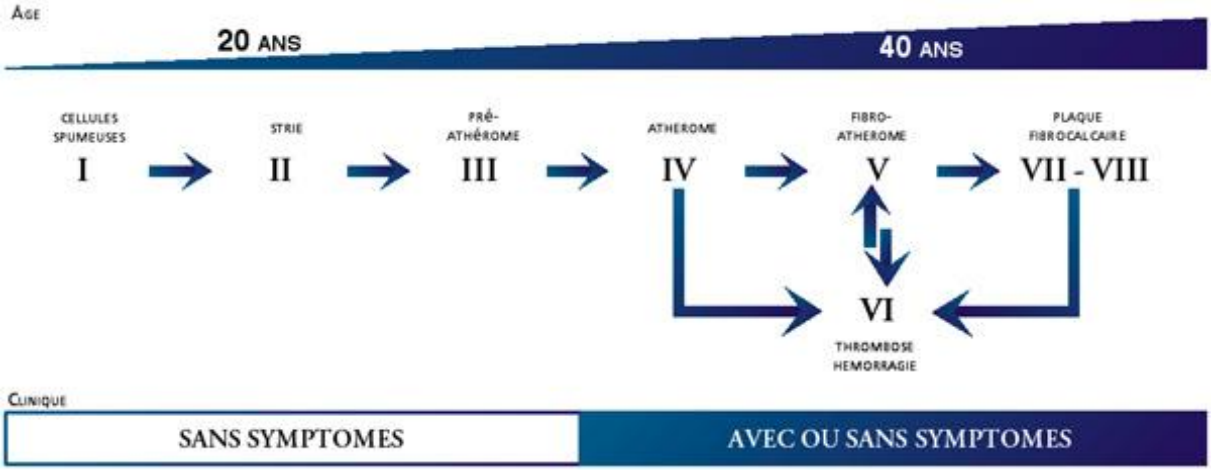


Figure 7 : Evolution théorique des étapes de la formation de l'athérosclérose (http://www.123bio.net/revues/jleoni/1chap3.html)

D. **Facteurs de risques**

L'athérosclérose est une maladie multifactorielle qui fait intervenir de nombreux éléments qui interagissent entre eux de manière complexe. L'évolution de la maladie fait intervenir différents facteurs de risques, caractérisés chez l'homme, que l'on peut regrouper en deux catégories. Ceux qui ont une composante génétique importante et d'autres qui sont plutôt d'ordre environnemental. (LUSIS, 2000).

1. *Les facteurs à prédominance génétique*

Parmi les facteurs de risques à composante génétique, la catégorie la plus importante regroupe les dyslipidémies. L'hypercholestérolémie est le principal facteur de risque de l'athérosclérose. Il existe en effet une relation linéaire entre le taux de cholestérol plasmatique et la morbi-mortalité cardiovasculaire. La dyslipidémie la plus grave est celle provoquant un niveau élevé de LDL. Bien que ce paramètre puisse être modifié par l'alimentation, une composante familiale a été démontrée (ASSMANN G. et al., 1999). D'autres dyslipidémies peuvent être mises en cause, comme celles provoquant une baisse du taux de HDL ou encore celles à l'origine d'un taux élevé en lipoprotéines (LUSIS, 2000).

La toxicité vasculaire du glucose lors d'hyperglycémie fait du diabète de type II un facteur de risque important de l'athérosclérose. L'hyperglycémie est notamment responsable d'une altération de la fonction endothéliale, d'une prolifération des cellules musculaires lisses et d'une diminution des capacités anti-oxydantes de l'organisme qui amplifient l'athérosclérose. Il est important de noter qu'il existe aussi un lien entre insulinorésistance et maladies cardiovasculaires, l'insulinorésistance étant souvent secondaire au diabète de type II. De plus, l'hypertension artérielle très présente chez les diabétiques augmente aussi le risque d'athérogénèse. Elle fait partie des risques majeurs de l'athérosclérose.

L'obésité est un facteur plus ou moins lié aux facteurs précédants, jouant aussi un rôle sérieux dans l'amplification de l'athérosclérose.

On peut aussi noter que chez l'homme le sexe et l'âge sont des facteurs importants. Les hommes sont plus sensibles que les femmes, les personnes âgées plus sensibles que les jeunes (ABOYANS V and B, 2010).

2. *Les facteurs à prédominance environnementale*

Les facteurs à prédominance environnementale ont un rôle considérable dans l'augmentation actuelle de l'athérosclérose au sein de la société:

- **L'alimentation** : les lipides jouent un rôle central dans l'athérosclérose, la proportion de lipides dans le régime est donc un facteur essentiel. On note notamment que le cholestérol et les acides gras saturés sont rendus responsables de cette pathologie chez l'homme. Ces deux éléments jouent directement sur le niveau de LDL en l'augmentant. Au contraire, la consommation de graisses insaturées, de sucres complexes et de fibres montre un effet anti-athérogène. Ces éléments jouent sur une augmentation des HDL ou sur une diminution d'absorption des lipides au niveau intestinal. Il est important de noter que le risque athérogène par ingestion importante de cholestérol peut être modulé par les conditions d'absorption, le métabolisme et l'état du sujet. (LAGARDE M. and H., 2003)

- **Le tabagisme** : il existe dans la fumée de tabac plusieurs milliers de composants dont certains ont un rôle dans l'augmentation des risques cardiovasculaires. De ce fait, les mécanismes physiopathologiques de la toxicité du tabac sont complexes. Les principaux éléments étudiés sont la nicotine et les hydrocarbures. Ces derniers agressent les cellules endothéliales et provoquent une prolifération des cellules musculaires lisses. Une baisse importante des HDL peut être observée chez les fumeurs. De plus il a été démontré que le régime des fumeurs est réorienté vers un régime plus riche en graisses. (THOMAS D. , 2003)

Il s'agit des deux facteurs environnementaux les plus importants chez l'homme. Il en existe d'autres comme le manque d'activité physique ou des causes infectieuses.(LUSIS, 2000)

E. **Les sites privilégiés chez l'homme**

Les localisations vasculaires préférentielles des plaques athéromateuses chez l'homme se situent essentiellement sur la courbure intérieure des vaisseaux et souvent au point de

bifurcation dans des zones caractérisées par de faibles forces de cisaillement sur l'endothélium. Par ordre de fréquence, on retrouve les localisations suivantes :

1. *Les artères coronaires*

Les artères coronaires sont le siège de pressions mécaniques fortes pour chaque cycle cardiaque normal ce qui, en parallèle de leurs organisations complexes et sinueuses facilitent la formation de plaques d'athéromes. Il existe un site de prédilection en région coronaire qui se situe au niveau de la bifurcation de l'artère coronaire gauche avec les branches de l'artère circonflexe. (Frangos et al., 1999)

2. *Les artères cervicales et intracrâniennes*

Cette localisation est importante car les complications des plaques situées au niveau de ces artères sont une des causes majeures de l'infarctus de l'encéphale. Au niveau cervical, le principal site d'athérosclérose est le bulbe ou bifurcation carotide. A ce niveau, la sténose peut dépasser 50%. Concernant l'artère carotide, la plaque athéromateuse peut se développer aussi bien en région cervicale qu'intracrânienne. Le bulbe carotidien est aussi un site privilégié de l'athérosclérose, particulièrement touché chez l'homme. La sténose à cet endroit peut être très sévère.

Les artères sous-clavières et vertébrales extracrâniennes sont des sites fréquemment touchés mais dont la sténose, malgré son importance, n'a que peu de conséquences cliniques chez l'homme grâce à la compensation par d'autres artères.

Concernant les artères intracrâniennes, l'athérosclérose y est fréquente mais varie beaucoup selon les facteurs de risques. Le siphon carotidien, la terminaison carotide et les premiers segments de l'artère cérébrale moyenne sont les sièges privilégiés de l'athérosclérose intracrânienne. (WEBER S. and al., 2003)

3. *L'aorte thoracique descendante*

D'un point de vue chronologique, l'aorte thoracique est le premier site touché par l'athérosclérose. Cependant, les plaques formées sur ce site sont rarement les plus sténosantes. Elles peuvent quand même être amenées à se compliquer. Il s'agit d'une localisation probablement sous évaluée car difficilement accessible par un examen échographique classique alors qu'elle semble avoir un rôle non négligeable lors d'infarctus cérébraux. (WEBER S. and al., 2003)

4. *L'aorte abdominale et les artères des membres inférieurs*

Chez l'homme, l'athérosclérose de l'aorte abdominale et des artères des membres inférieurs provoque ce que l'on appelle l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs. Ce

syndrome correspond à des lésions sténosantes ou occlusives liées à des plaques d'athérosclérose qui affectent les artères des membres inférieurs. Il est très fréquent chez l'homme et sert souvent de signe d'appel de l'athérosclérose sur d'autres sites. De nombreuses artères des membres inférieurs peuvent être le siège de plaques.

L'aorte abdominale peut être le siège d'athérosclérose sur toute sa longueur mais la portion infra-rénale est particulièrement touchée (Frangos et al., 1999).

La bifurcation aorto-iliaque est un site particulièrement sensible au développement des plaques. La plupart des artères des membres inférieurs peuvent être susceptibles de développer des lésions d'athérosclérose, depuis les artères iliaques jusqu'aux artères du pied en passant par les artères fémorales, poplitées et jambières (Collège des enseignants de médecine vasculaire and Angioweb, 2010).

5. *Les artères rénales*

L'athérosclérose est une cause importante d'ischémie du rein, à l'origine d'insuffisance rénale progressive mais aussi d'infarctus du parenchyme rénal par embolies rénales. Il s'agit d'une localisation très fréquente chez l'homme. La présence d'une plaque au niveau rénal lors de dyslipidémie est quasiment systématique. (WEBER S. and al., 2003)

Ainsi l'athérosclérose est une maladie multifactorielle qui évolue progressivement sur toute la durée de vie de l'homme.

Le cholestérol, par l'intermédiaire des lipoprotéines, est un acteur majeur de l'athérosclérose. Les lésions athéromateuses résultent de l'infiltration et d'une accumulation progressive de LDL dans la paroi des vaisseaux. Ces lipoprotéines, suite à des modifications biochimiques, sont ensuite piégées dans des cellules alors appelées cellules spumeuses. Les lésions peuvent évoluer et présenter des complications ulcératives, hémorragiques ou thrombotiques. Elles peuvent conduire à des maladies graves telles que l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral ou l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs.

Par ailleurs, de nombreux facteurs de risques favorisent le développement des lésions d'athérosclérose. On peut notamment citer les dyslipidémies, le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle, une alimentation trop riche en cholestérol et le tabagisme.

Enfin, chez l'homme, les plaques d'athérosclérose ont cinq localisations préférentielles : les artères coronaires, les artères cervicales et intracrâniennes, l'aorte abdominale et les artères des membres inférieurs qui la prolongent, ainsi que les artères rénales.

II) LES MODELES ANIMAUX D'ATHEROSCLEROSE

Définition du terme modèle *(Dictionnaire Larousse) : « Un modèle est une représentation en petit d'un élément que l'on veut reproduire »*

L'utilisation de modèles animaux a toujours été importante pour la recherche. L'amélioration des connaissances chez l'homme dans de nombreux domaines médicaux comme la physiologie, la biochimie ou la biologie moléculaire ainsi que ses conséquences thérapeutiques potentielles sont liées à l'étude des modèles animaux (Yanni, 2004).

L'utilisation des animaux de laboratoire comme modèle pour l'homme n'est pas récente. Trois siècles avant Jésus-Christ, Erasistratos avait utilisé un porc vivant pour étudier le fonctionnement cardiaque. Depuis, de nombreuses études utilisant des animaux de laboratoires ont reçu des prix Nobel (Yanni, 2004).

Si les modèles animaux sont nécessaires, leur utilisation répond à un cahier des charges strictes et leur recours est conditionné à l'absence d'alternative. Pour des conditions éthiques évidentes, l'utilisation des animaux de laboratoire doit être réfléchie et nécessaire pour l'étude. Le bien-être, la douleur et la détresse des animaux sont autant de préoccupations des scientifiques les utilisant en laboratoire. C'est avec ces préoccupations que RUSSELL et BURCH ont développé la règle des Trois R (RUSSELL W. and R., 1959). Cette règle est devenue un principe éthique auprès des scientifiques. Les trois R signifient (RUSSELL W. and R., 1959):

- **Remplacement** : désigne toutes les solutions permettant d'éviter l'utilisation des animaux. Ces remplacements peuvent être complets, c'est-à-dire remplacer des animaux par des systèmes inanimés ; ou bien relatifs, c'est-à-dire ayant une sensibilité moins élevée.

- **Réduction** : désigne toutes les méthodes permettant de réduire le nombre d'animaux utilisés sans diminuer la qualité de l'étude. L'optimisation des résultats est notamment très importante pour ce point.

- **Raffinement** : désigne les possibilités existantes de diminuer les douleurs ou la détresse des animaux ; aussi bien pour les expérimentations que pour leur élevage.

Les études utilisant des modèles animaux reposent sur ces principes. La communauté scientifique est devenue très stricte sur ces points. Les études sur l'athérosclérose en font parties.

Dans cette partie nous allons voir ce que les modèles animaux ont apporté à la recherche sur l'athérosclérose et pourquoi ils lui sont devenus essentiels.

A. L'athérosclérose naturelle chez les animaux

1. *Les animaux étudiés*

Les premières parutions mettant en évidence l'observation de lésions d'athérosclérose naturelle sur des animaux datent des années 1930. Elles concernent des études menées sur des animaux tenus en captivité dans le Jardin Zoologique de Philadelphie (VASTESAEGER M. and R., 1962). La réalisation de milliers d'autopsies sur les animaux du parc à partir de 1901 a permis la parution de plusieurs études.

La première a été réalisée par FOX en 1923 (FOX H. , 1923). A cette époque, il ne mentionne pas le terme d'athérosclérose mais parle déjà de lésions vasculaires dégénératives dont les descriptions se rapprochent nettement des lésions d'athérosclérose correspondant à la définition donnée précédemment.

Dans la continuité du travail de FOX, les autopsies ont été poursuivies au parc zoologique de Philadelphie et elles ont permis de réaliser de nouvelles études par Ratcliffe et col. (Ratcliffe and Cronin, 1958) (Ratcliffe et al., 1960) dans la fin des années 1950. Celles-ci rentrent plus en profondeur dans l'analyse de la sensibilité des différentes espèces à l'athérosclérose grâce à la réalisation de millions d'autopsies. La durée sur laquelle l'étude a été effectuée a permis de mettre en évidence des changements qualitatifs et quantitatifs des lésions observées. Les auteurs ont recherché les différents facteurs qui ont pu modifier ces éléments. Ils ont naturellement mis en avant les conséquences des modifications dans les rations alimentaires sur l'importance des lésions. De plus, ils ont remarqué que l'activité physique pouvait avoir une influence non négligeable sur l'athérosclérose en réduisant son développement.

D'autres études ont été réalisées suite à l'autopsie d'animaux en captivité dans les mêmes années. Notamment entreprises par FINLAYSON et col. (FINLAYSON et al., 1962), la plus importante concerne l'autopsie de centaines d'animaux du Jardin Zoologique de Londres. Celle-ci apporte un intérêt supplémentaire par le dosage du cholestérol plasmatique des animaux observés.

Le travail proposée par VASTESAEGER en 1962 (VASTESAEGER M. and R., 1962) est un des seuls à étudier les lésions sur des animaux vivants en liberté dans leur milieu naturel. Ces animaux proviennent du camp de capture d'Epulu. Ces résultats ont pu être comparés à ceux d'animaux vivants en captivité dans le zoo d'Anvers. L'analyse des lésions permet de montrer que les animaux maintenus en captivité sont plus sujets à développer des lésions d'athérosclérose que les animaux vivants en liberté.

Il est important de noter que, même si les animaux élevés en captivité se rapprochent d'animaux ayant eu une vie sauvage, on ne peut pas considérer que l'athérosclérose est purement naturelle car de nombreux facteurs liés à l'homme entre en compte comme l'alimentation, la diminution de l'exercice ou le stress lié à leur captivité. Malheureusement il n'existe que peu d'études caractérisant les lésions d'athérosclérose sur des animaux purement sauvages. Il devient donc difficile de quantifier l'effet de ces différents éléments sur

les lésions observées. De plus, les animaux sauvages analysés dans l'étude de VASTESAEGER (VASTESAEGER M. and R., 1962) ont été abattus dans leur milieu naturel. Cependant, l'auteur note que ces animaux devaient déjà probablement être affaiblis ou malades pour avoir pu être abattus. Ainsi, la population étudiée ne représente peut être pas entièrement une population normale.

2. *Les espèces concernées*

Globalement, les différentes études font ressortir que la plupart des animaux étudiés en captivité présentent des lésions d'athérosclérose à divers stades. Cependant, certaines espèces sont beaucoup plus sensibles à cette maladie que d'autres.

Par exemple, les oiseaux sont particulièrement sensibles à l'athérosclérose. (Ratcliffe and Cronin, 1958) (FOX H. , 1923) (FINLAYSON et al., 1962, FINLAYSON, 1983) (VASTESAEGER M. and R., 1962).

Cependant une différence peut être relevée entre les oiseaux qui se nourrissent de viandes ou de graines et ceux qui se nourrissent de poissons. (FINLAYSON et al., 1962) Ainsi, les perroquets, les oiseaux élevés pour leur chair (canards, oies, faisans…), les colombes (FINLAYSON et al., 1962, Ratcliffe and Cronin, 1958) présentent de nombreuses lésions d'athérosclérose, tandis que les pingouins ou les hérons en présentent peu (FINLAYSON et al., 1962) .

Parmi les mammifères, les primates présentent de nombreuses lésions d'athérosclérose. (FINLAYSON et al., 1962). Leur sensibilité semble être une des plus importantes parmi les mammifères. Parmi ceux-ci, les singes de l'ancien monde et les babouins semblent encore plus touchés que les autres. Par ailleurs, d'autres mammifères sont aussi sensibles à l'athérosclérose, comme les marsupiaux ou les rongeurs. (Ratcliffe and Cronin, 1958, FINLAYSON et al., 1962). On remarque cependant que les carnivores ne présentent aucune lésion.

A noter que l'athérosclérose est extrêmement rare chez les reptiles et les invertébrés. (FINLAYSON et al., 1962)

L'étude comparative de VASTESAEGER (VASTESAEGER M. and R., 1962) permet de montrer que les lésions chez les animaux vivant en liberté sont globalement moins intenses que celles observées sur les animaux vivant en captivité. Ainsi, les singes, par exemple, semblent beaucoup moins sensibles à l'athérosclérose que l'on pouvait le penser en observant les lésions sur les animaux captifs.

3. *Description et localisation des lésions*

Que ce soit chez les oiseaux ou les mammifères, l'aorte est le site le plus touché par les lésions d'athérosclérose (FOX H. , 1923) (Ratcliffe et al., 1960) (FINLAYSON, 1983). La

plupart des oiseaux produisent des plaques d'athérome au niveau de l'aorte thoracique. En revanche, certaines espèces, comme les Galliformes, se différencient en étant plus sensibles au niveau de l'aorte abdominale (FINLAYSON et al., 1962).

Des lésions sont fréquemment retrouvées sur l'artère brachiocéphalique chez les oiseaux. La sténose provoquée par ces lésions peut être très importante chez certaines espèces en particulier chez les perroquets en captivité. (Ratcliffe et al., 1960). Il s'agit d'ailleurs du site privilégié des plaques d'athérome dans cette espèce.

Dix pourcents des animaux retenus en captivité vont déclarer des lésions au niveau des artères coronaires (Ratcliffe et al., 1960) tandis que celles-ci sont beaucoup plus rares sur les animaux vivant en liberté (VASTESAEGER M. and R., 1962).

Les artères cérébrales présentent rarement des lésions d'athérosclérose chez les animaux et ne sont quasiment jamais citées comme site d'athérosclérose.

Les complications de l'athérosclérose sont rares, bien que des anévrysmes aient déjà été observés chez des animaux en captivité (Ratcliffe et al., 1960).

Chez les singes, les lésions au niveau de l'aorte débutent très jeunes. Elles commencent par des stries lipidiques (FINLAYSON et al., 1962) et peuvent parfois se développer jusqu'à former un cœur lipidique (Ratcliffe et al., 1960). Malgré tout, les plaques d'athéromes sont relativement rares chez les primates, comme chez la plupart des mammifères. Ainsi, l'athérosclérose se limite aux stries lipidiques et n'évolue pas vers des stades plus avancés. (FINLAYSON et al., 1962).

Ces lésions sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tab II) :

Tableau II : Synthèse des lésions des principales espèces sauvages étudiées

	Sensibilité à l'athérosclérose	**Type de lésion**	**Localisation**
Oiseaux carnivores ou granivores	++	Plaque d'athérome	Aorte thoracique (parfois abdominale) Artères brachiocéphalique
Oiseaux piscivores	-		
Primates (captifs)	++	Stries lipidiques	Aorte, artères iliaques, artères coronaires
Marsupiaux	+	Stries lipidiques	Aorte
Rongeurs	+		Aorte
Reptiles	-		
Invertébrés	-		

Par ailleurs, toutes les fréquences et les lésions observées concernent des animaux morts naturellement. Ainsi, aucun suivi de ces lésions sur le temps n'a pu être effectué. Les lésions observées sur les animaux récupérés en liberté sont toujours nettement moins développées que celles sur les animaux captifs (VASTESAEGER M. and R., 1962).

B. **Comparaison de l'athérosclérose chez l'homme et l'animal**

1. *Comparaisons anatomiques*

En étudiant les différentes espèces sauvages ou captives, on s'aperçoit qu'il existe de grandes disparités en ce qui concerne la sensibilité interspécifique. Certaines espèces présentent des lésions décelables, mais il reste rare d'observer des symptômes de cette maladie chez les animaux. Il est d'ailleurs occasionnel de mettre en évidence des complications de ces lésions sur les animaux en captivité excepté chez les oiseaux carnivores. Chez les bovins, on peut observer parfois des complications de l'athérosclérose sans symptôme apparent comme de petits infarctus du myocarde ou du parenchyme rénal (Ratcliffe et al., 1960).

L'intensité des lésions diffère énormément entre les espèces, entre les individus d'une même espèce et selon les conditions de vie des animaux. Parfois, au sein d'une même espèce, les races peuvent présenter des sensibilités différentes à l'athérosclérose. C'est le cas, par exemple, des pigeons. Les races King et Carneau développent des plaques d'athérome, lors d'athérosclérose spontanée, alors que le Show Racer et le Racing Horner n'en présentent que très rarement (Clarkson et al., 1959).

La localisation des lésions peut aussi être très variable selon les espèces et selon l'âge. Chez les oiseaux carnivores ou omnivores qui ont tendance à développer une athérosclérose spontanée importante, les lésions se situent sur des sites différents de ceux de l'homme. L'aorte thoracique et l'artère brachiocéphalique sont des sites prioritaires chez les oiseaux, bien différentes des localisations préférentielles chez l'homme décrites dans la première partie. En revanche, les lésions observées chez le singe s'en rapprochent nettement, avec des localisations aortiques, carotidiennes et iliaques principalement. (Ratcliffe et al., 1960)

Il est important de remarquer que les lésions d'athérosclérose sont réversibles chez la plupart des espèces étudiées et notamment celles qui sont utilisées comme modèle animal : le lapin, le porc, le chien, le pigeon, le poulet et le primate. Lorsque le cholestérol plasmatique diminue, le mécanisme va avoir tendance à s'inverser (Wagner W. D. and al., 1980). Les lésions observées chez les animaux peuvent ainsi être amenées à progresser ou à régresser avec l'âge et les conditions de vie. Ces observations ont surtout été faites sur des stades peu avancés de type stries lipidique ou plaque débutante. Lorsque le centre de la plaque commence à se nécroser, cette réversibilité est remise en cause. Les études de régression de plaque chez le singe sont très utilisées car elles sont très proches histologiquement de celles

de l'homme (Blankenhorn and Kramsch, 1989). Malgré tout, ces observations sont relativement éloignées du modèle plus linéaire de l'évolution des lésions avec l'âge que nous avons décrit chez l'homme dans la première partie.

2. *Les différences de sensibilité*

La complexité du modèle animal réside notamment dans ses différences avec l'homme. Pour limiter leurs effets, il est nécessaire de les comprendre afin de savoir si elles peuvent être modifiées ou tout du moins diminuées. Nous verrons ci dessous les éléments qui peuvent expliquer les particularités de chaque espèce.

a Habitudes alimentaires et lipoprotéines plasmatiques

Etant donné le rôle central du cholestérol et, plus encore, des lipoprotéines dans le mécanisme de l'athérosclérose, une variation de ses proportions chez les différentes espèces aura un impact important sur le développement des lésions.

On peut naturellement penser que le point principal de la sensibilité à l'athérosclérose réside dans la quantité de cholestérol circulant. Ce postulat n'est que partiellement vrai car la sensibilité dépendra plus de la façon dont il sera transporté que par la quantité de cholestérol elle-même. Ainsi, il est intéressant d'observer la proportion des différentes lipoprotéines chez les espèces étudiées (fig 8).

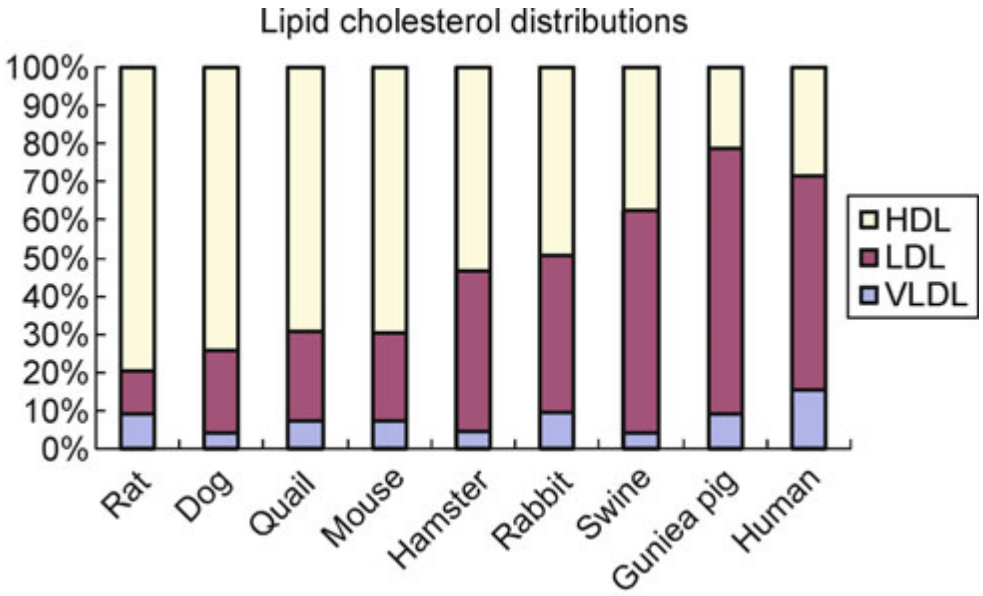


Figure 8 : Comparaison des proportions de lipoprotéines entre différentes espèces animales et l'homme
(Xiangdong L. and al., 2011)

La figure 7 donne un exemple des disparités qui peuvent exister entre les différentes proportions de lipoprotéines chez les animaux. L'importance de la proportion du LDL et du HDL est primordiale.

Ainsi, les animaux présentant un taux très élevé en HDL (et donc un taux plutôt bas en LDL) seront très résistants à l'athérosclérose. C'est ce que l'on peut retrouver chez le rat ou le poisson.

Au contraire, les animaux présentant un taux élevé en LDL et beaucoup plus faible en HDL, se rapprochent plus du profil lipidique de l'homme et développent une athérosclérose spontanée bien plus prononcée : c'est le cas du cochon ou du cochon d'inde. (Chapman, 1980).

On sait que l'alimentation chez l'homme est un facteur de risque important. Le régime alimentaire peut nous orienter sur la proportion des lipoprotéines plasmatiques et ainsi sur le développement de l'athérosclérose. Ainsi, les espèces se nourrissant de poissons ont elles même peu tendance à développer de l'athérosclérose. Ce sont ces mêmes différences que l'on retrouve chez les oiseaux piscivores et les oiseaux carnivores. Cette observation a pu être confirmée par Ratcliffe et col.(Ratcliffe and Cronin, 1958) involontairement lorsque ceux-ci ont observé les lésions d'athérosclérose chez un héron captif nourri avec de la viande. Il présentait des lésions bien plus développées que les hérons nourris avec du poisson.

Même si une modification du régime alimentaire peut avoir des répercussions importantes sur le niveau de sensibilité des sujets au sein d'une même espèce, aucune règle ne peut être établie sur le lien entre le régime alimentaire propre à chaque espèce et l'athérosclérose. Par exemple, chez les animaux ayant un régime alimentaire carnivore, certaines espèces comme les rapaces présentent de nombreuses lésions alors que les mammifères carnivores, n'en déclarent que rarement. Il est donc toujours nécessaire de se rapporter d'abord au profil lipoprotéique de l'espèce afin de définir sa sensibilité à la maladie. Néanmoins,

b Conditions de vie et comportement

Peu d'études ont été réalisées sur des animaux sauvages vivant en liberté dans leur habitat naturel. Ratcliffe fait remarquer que l'environnement dans lequel ils vivent influence l'évolution de la maladie. Cette hypothèse est fondée sur l'idée que la modification du milieu de vie augmente le stress chez les animaux. Ainsi, un animal en captivité sera plus stressé qu'un animal en liberté. De plus, la captivité sera généralement liée à une diminution de l'activité physique, qui semble un facteur de risque mis en avant, comme chez l'homme (Ratcliffe et al., 1960).

Chez le singe, la vie en groupe est également un facteur de stress à l'origine de lésions. L'organisation du groupe chez les macaques notamment est très précise. La mise en place ou la modification d'une hiérarchie dans un groupe peut être un facteur aggravant important. C'est ce qu'ont montré Shively et Clarkson (Shively and Clarkson, 1994) en quantifiant

l'athérosclérose au niveau coronaire sur des femelles macaques nourries avec une alimentation légèrement plus riche en cholestérol. Les analyses sont réalisées avant et après modification de leurs groupes. On remarque alors que ce ne sont pas les statuts qui influencent la sensibilité mais les modifications de statut, que ce soit dans le sens dominant à subordonné ou inversement (fig 9).

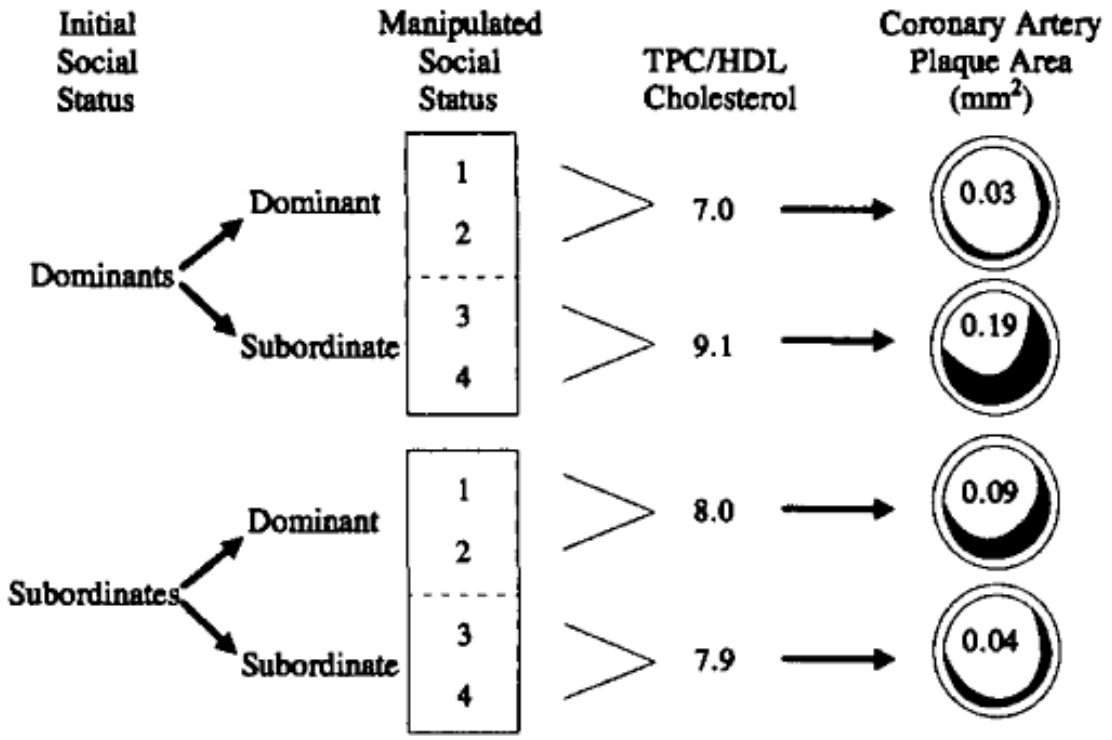


Figure 9 : Modification de la sensibilité lors d'évolution du statut social
TPC = Cholestérol plasmatique total
(Shively, 1994)

L'équipe de SHIVELY (Shively et al., 2009) note que les modifications de statut social jouent aussi un rôle sur l'accumulation de tissus adipeux chez les macaques. Ce paramètre est corrélé à l'augmentation du stress chez les animaux déstabilisés dans leur groupe et à l'augmentation des lésions athéromateuses au niveau coronarien. L'obésité de ces macaques est surtout marquée au niveau viscéral et sous cutanée.

c Pression artérielle

Les forces de frottement exercées sur la paroi sont à l'origine des lésions d'athérosclérose. De plus, nous savons que l'hypertension artérielle chez l'homme est un facteur de risque important de la maladie. C'est en partant de ces connaissances que

FINLAYSON (FINLAYSON, 1983) a proposé les variations de pressions artérielles comme élément pouvant influencer la sensibilité des différentes espèces. C'est notamment par ce facteur qu'il explique la très faible sensibilité des reptiles chez qui la pression artérielle est nettement plus basse que chez les autres espèces.

Cette hypothèse pourrait aussi expliquer la sensibilité importante des oiseaux étant donné leur pression artérielle très élevée. C'est ce qu'ont essayé de montrer Miller et col. en 1985 (Miller L. E. and al., 1985) en mettant en évidence des lésions d'athérosclérose bien plus développées chez des dindes hypertendues comparées à des dindes présentant une faible pression artérielle.

Ainsi, ce facteur semble jouer un rôle mais seulement peu d'études ont été réalisées sur ce point, ce qui ne permet pas de généraliser cette idée.

d Facteur génétique

Les facteurs proposés précédemment offrent des pistes de réflexion dans la compréhension des différences de sensibilité et des variations d'expressions de la maladie chez les espèces étudiées. Malgré tout, ils n'expliquent pas les disparités importantes qui peuvent exister sur des espèces parfois proches, ou entre deux races d'une même espèce, voire parfois entre deux individus.

C'est par exemple ce qu'a mis en évidence l'équipe de CLARKSON (Clarkson et al., 1959) lorsqu'elle a comparé les lésions sur les races de pigeons. Les pigeons voyageurs (de race « Show Racer » et « Racing Homer ») ne présentent presque pas de lésions d'athérosclérose, alors que les races « King » et « Carneau » présentent des lésions qui peuvent atteindre jusqu'à 10% de la surface intimale. Ces oiseaux ont été étudiés dans des conditions similaires qui ont permis aux auteurs de supprimer l'influence des autres facteurs qui peuvent favoriser l'apparition de lésions, en excluant notamment les biais pouvant provenir de l'âge, du sexe, de l'alimentation et de l'activité physique. Cette étude montre bien qu'il existe un autre paramètre à prendre en compte : le facteur génétique.

Le porc est un bon modèle d'étude pour comparer les différences de lignées. Ainsi, ROWSELL et col. (ROWSELL et al., 1960) ont comparé plusieurs lignées de porcs en faisant des groupes avec un porc de chaque lignée. Ils ont pu observer que pour chaque groupe, le porc présentant l'athérosclérose la plus développée provenait de la même lignée. Suite à ces découvertes, d'autres études (DETWEILER, 1964) ont permis de montrer que chaque lignée exprime des taux plasmatiques de cholestérol, de lipoprotéines et de protéines différents.

Les prédispositions génétiques permettent de mieux comprendre les différences d'espèce, de race ou de lignée. Cependant, tous les mécanismes favorisant l'augmentation de sensibilité des animaux en lien avec ces prédispositions ne sont pas toujours très bien connus. Les facteurs génétiques semblent agir au niveau métabolique et particulièrement au niveau du métabolisme des lipoprotéines. Il est fort probable, en effet, que les facteurs génétiques

interagissent avec les différents facteurs environnementaux, ce qui rend l'étude de leur importance très complexe. (DETWEILER, 1964)

C. Les différents procédés existants pour induire des lésions

Les modèles animaux ont été très utilisés dans la recherche sur l'athérosclérose. Le mécanisme de l'athérosclérose étant complexe, les modèles animaux ont évolué et ainsi de nombreux modèles ont vu le jour en fonction du but recherché. Avant le début du XXème siècle, les tentatives pour créer un modèle animal développant des lésions athéroscléreuses ressemblant à l'homme furent nombreuses. Différentes techniques furent proposées, comme l'utilisation de médicaments, d'infections bactériennes ou de toxines. Au début du XXème siècle, les techniques s'affinèrent et différents modèles virent le jour progressivement. Ces modèles peuvent être classés en trois grandes catégories.

Le premier modèle réussi fut créé entre 1908 et 1912 à Saint-Pétersbourg sur des lapins (KATZ L.N., 1958). Ce premier modèle, dit « traditionnel » (BOURDILLON M.C. et al., 2003), résulte d'une modification de l'environnement de l'animal et notamment de son alimentation.

Dans les années 1970, dans le but de rechercher et d'étudier les facteurs de risques, des animaux génétiquement prédisposés sont sélectionnés pour former ainsi une deuxième catégorie de modèles animaux.

Une troisième catégorie voit le jour avec l'évolution des connaissances et des techniques génétiques. Des animaux génétiquement modifiés dont le premier but fut de comprendre la part des gènes dans le métabolisme des lipoprotéines, ont ainsi été élaborés (BOURDILLON M.C. et al., 2003).

La description et l'intérêt de ces modèles sont détaillés ci-dessous.

1. *Modifications environnementales*

Comme nous avons pu le voir avec les animaux en liberté, diverses modifications du milieu provoquent une augmentation importante des lésions athéromateuses chez les animaux. Les modifications environnementales sur lesquelles on peut agir varient en fonction du but recherché. Celles ci peuvent être globales, comme les changements de régime alimentaire, l'augmentation ou la diminution de l'activité ainsi que les conditions de vie, l'injection de substances chimiques ou immunologiques (DREW A. , 2001); ou bien être localisées suite à des agressions locales endovasculaires ou périvasculaires. Plusieurs techniques sont associées pour obtenir un modèle le plus intéressant possible ou accélérer le développement des lésions. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

Lorsque l'objectif est de provoquer des lésions athéromateuses chez les animaux, un régime enrichi en cholestérol et en corps gras est nécessaire. (BOURDILLON M.C. et al., 2003). Si ce régime n'est pas mis en place, les lésions crées seront plutôt de type artériosclérosiques. Le régime enrichi en cholestérol permet d'augmenter le taux de LDL dans le sang et de favoriser ainsi l'apparition des lésions d'athérosclérose.

a Lésions induites

Lors de la mise au point d'un modèle d'athérosclérose chez l'animal, l'objectif principal est d'être le plus proche possible des lésions humaines. Selon les techniques utilisées, quatre types de lésions peuvent être créées selon l'animal choisi et le protocole utilisé permettant de se rapprocher au mieux du modèle souhaité (BOURDILLON M.C. et al., 2003):

- Les **lésions intimales** : ce sont les lésions produites par les régimes riches en cholestérol. Elles sont de type athéromateuses, riches en lipides. Elles peuvent se limiter à de *l'infiltration lipidique*, prendre la forme de *stries lipidiques diffuses* avec une majorité de cellules spumeuses. Elles peuvent être plus avancées et former des *lésions saillantes,* pouvant évoluer vers *des plaques fibro-lipidiques* qui comporteront alors un cœur lipidique et une chape fibreuse.

- Les **proliférations myo-intimales** : contrairement aux premières, ces lésions contiennent peu de lipides. Elles ont par contre un développement concentrique ou excentrique à l'origine d'un remodelage de la paroi plus rapidement sténosant.

- Les **lésions dégénératives ou artérioscléreuses de la média** : la media est alors très fibrosée, nécrosique ou métaplasique. Ces lésions peuvent être observées sur un animal dans cinq cas : lors d'hypervitaminose D, d'intoxication aux catécholamines ou à la nicotine et de déficience en cuivre ou manganèse. Ces lésions peuvent aussi être présentes sur des tissus sains congelés.

- Les **lésions thrombotiques** : ce sont les lésions généralement consécutives à une intervention locale, comme un clampage, une double ligature, une blessure endothéliale ou au laser. Ces mêmes lésions sont observées lors d'injection de venin.

Lors de modifications environnementales, le choix de l'espèce comme modèle dépendra de sa sensibilité vis-à-vis de l'athérosclérose. Différentes espèces ont ainsi été testées, chacune apportant certains avantages ou inconvénients.

b Le lapin

Le lapin fut le premier modèle expérimental utilisé par IGNATOWSHI en 1908 et le plus utilisé par la suite avec le modèle New Zealand White. Ce choix est surprenant car c'est

un mammifère qui ne développe pas spontanément d'athérosclérose. (DREW A. , 2001) (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

Par contre, le lapin répond très bien aux régimes enrichis en cholestérol et en lipides : une hypercholestérolémie majeure apparait rapidement. Malheureusement, les régimes trop riches en cholestérol (3%) sont mal supportés et à l'origine de lésions au niveau du cœur, des reins, du foie et des poumons que l'on ne retrouve pas chez l'homme. (DREW A. , 2001, BOURDILLON M.C. et al., 2003). C'est pourquoi les lapins sont en général nourrit avec 0,5 à 2% de cholestérol pendant 4 à 16 semaines selon les besoins de l'étude et le type de lésions souhaitées.

Les lésions apparaissent rapidement et sont riches en lipides. Leur répartition dépend de l'apport en cholestérol et est plus ou moins semblable à celle de l'homme. Elles se situent surtout au niveau de la crosse aortique et de l'aorte ascendante (DREW A. , 2001). Des lésions évoluant vers une rupture de plaque ont déjà été obtenues avec des régimes très riches en graisse animale ou végétale. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

c Le porc

Les similitudes avec l'homme au niveau physiologique, hémodynamique et métabolique en font un modèle intéressant. D'un point de vue topographique et morphologique, les lésions athéromateuses qui se développent chez le porc présentent aussi des analogies intéressantes avec les lésions humaines, on peut notamment retrouver la présence de cellules spumeuses, l'accumulation de lipides extracellulaires et la prolifération de cellules musculaires lisses. Les porcs développent spontanément des lésions au niveau des artères coronaires et extramyocardiques. Des stries lipidiques peuvent être observées dès l'âge de 6 mois et des lésions plus avancées peuvent être observées à partir de 1 an (DREW A. , 2001). La réponse aux régimes athérogènes est moins intense par rapport au lapin. Ainsi, des techniques de lésions vasculaires localisées sont indispensables afin d'accentuer le phénomène et ainsi de créer des lésions compliquées (avec nécrose, ulcérations, hémorragies, thrombose ou infarctus) en association avec un régime riche en graisse (BOURDILLON M.C. et al., 2003, DREW A. , 2001)

d Les primates

Les primates sont très proches de l'homme d'un point de vue phylogénétique ainsi que par leur profil lipoprotéique. Comme nous l'avons vu précédemment, ils développent spontanément des lésions athéromateuses dont la progression est lente et à des stades bien moins avancés que chez l'homme. Ils sont sensibles à un régime riche en cholestérol (de 2,5% à 5%) et en lipides (de 10 à 25%) : il faut en moyenne 2 ans pour l'apparition de stries lipidiques et au-delà de 5 ans pour des lésions se compliquant selon les espèces. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

Les lésions sont principalement localisées au niveau de l'aorte et des artères coronaires. Elles sont très proches de celles de l'homme chez les singes de l'ancien monde (ou

Catarrhiniens, comportant notamment les macaques et les grands singes). Les macaques ont été les primates les plus utilisés dans les recherches sur l'athérosclérose. Ils ont permis de mettre en évidence le rôle des hormones sexuelles dans l'athérosclérose. En effet, l'ovariectomie ou la vasectomie aggravent les lésions d'athérosclérose alors que l'administration d'œstrogènes a un effet bénéfique sur l'athérosclérose du singe. (BOURDILLON M.C. et al., 2003) (DREW A. , 2001)

D'autres facteurs de risques ont pu être mis en évidence chez le singe, et notamment les facteurs psychosociaux : l'athérosclérose est plus développée chez les mâles dominants, dans les groupes instables ou chez les solitaires. (Shively et al., 2009)

e Les oiseaux

Les oiseaux ont été beaucoup utilisés comme modèle animal d'athérosclérose du fait de leur capacité à développer une athérosclérose spontanée qui est, chez certaines espèces, amplifiée par un régime riche en cholestérol.

Le pigeon est l'espèce de choix dans l'étude du développement de l'athérosclérose car parmi les oiseaux, c'est celui qui présente des lésions les plus proches de l'homme avec des caractéristiques biochimiques et histologiques comparables (DREW A. , 2001). De plus, le pigeon est la seule espèce dont la localisation des lésions est prévisible. En effet, une plaque d'athérome se forme systématiquement au niveau du tronc cœliaque. D'autres plaques peuvent également apparaitre au niveau coronaire, iliaque ou carotidien (BOURDILLON M.C. et al., 2003). Les pigeons sont également de bons modèles d'infarctus du myocarde qu'ils développent consécutivement à la présence d'embolies graisseuses libérées dans le sang, assez fréquentes chez le sujet âgé. C'est pour cette raison qu'ils seront couramment utilisés pour étudier les lésions compliquées de l'homme telles que les hémorragies, les thrombus ou l'épaississement de la média (DREW A. , 2001). Un intérêt du pigeon White Carneau provient de la ressemblance entre les plaques qu'il développe et la lésion fibro-lipidique humaine. En effet, ces lésions sont constituées de trois zones bien délimitées : la chape, les cellules musculaires lisses modifiées ainsi que les macrophages et les cellules spumeuses et enfin le cœur nécrosé. Ces caractéristiques font de ce pigeon un beau modèle d'étude.

Malgré un taux lipidique plasmatique similaire (cholestérol > 2,5 ou 3 g/L et lipoprotéines semblables), certaines souches de pigeons sont sensibles à l'athérosclérose (comme les White Carneau) tandis que d'autres sont très résistantes (Pigeon Voyageur ou Show Racer). Ces éléments sont à l'origine d'études sur l'impact des facteurs génétiques sur la sensibilité des individus à l'athérosclérose. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

De part la bonne connaissance de l'évolution des lésions chez les oiseaux, de nombreuses études ont été menées et en particulier à propos des effets secondaires des médicaments. De plus, la régression de l'athérosclérose possible chez ces animaux présente un intérêt supplémentaire car l'arrêt d'un régime riche en cholestérol permet la régression de l'hypercholestérolémie et des lésions (BOURDILLON M.C. et al., 2003).

f Les rongeurs

Les rongeurs ne développent pas d'athérosclérose spontanée et présentent une certaine résistance à l'athérosclérose induite. Le taux de cholestérol total est bas dans ces espèces avec un taux de HDL souvent naturellement supérieur au taux de LDL (BOURDILLON M.C. et al., 2003). Leurs profils lipoprotéiques en font des modèles relativement éloignés de l'homme. Ils ont été très peu utilisés comme modèle induit uniquement par l'alimentation.

De nombreuses lignées de rats et de souris ont été créées par sélection ou modification génétique relançant l'intérêt de ces espèces en particulier dans l'étude du rôle de l'hypertension dans l'athérosclérose ou de l'identification de gènes en lien avec la sensibilité individuelle à l'athérosclérose. Néanmoins, il reste souvent nécessaire d'associer ces stratégies à un régime riche en cholestérol.

g Les carnivores domestiques

Bien qu'ayant quelques intérêts concernant les études cardiovasculaires et chirurgicales, les carnivores domestiques sont très peu utilisés dans l'étude de l'athérosclérose. Ils sont très résistants à l'athérosclérose et les quelques lésions qu'ils développent sous régime riche en cholestérol sont éloignées de celles de l'homme aussi bien concernant leurs caractéristiques ou leurs localisations (DREW A. , 2001).

2. *Sélection génétique*

L'apparition des lésions induites par une modification alimentaire peut parfois être fastidieuse. De plus, afin d'améliorer la sensibilité individuelle des modèles et de créer des lésions plus proches des lésions humaines, des lignées ont été sélectionnées génétiquement. Ces lignées présentent souvent un aspect pratique pour les chercheurs et ont ainsi beaucoup été utilisées.

a Le lapin Watanabe Heritable Hyperlipidémic

Ce modèle a été sélectionné par WATANABE dans les années 1980. Il présente la particularité d'avoir une déficience en récepteur LDL à l'origine d'une diminution du catabolisme des LDL aboutissant à une hypercholestérolémie spontanée présente dès la naissance. Il est couramment utilisé comme modèle pour l'hypercholestérolémie familiale. Il est d'autant plus intéressant que ses lésions présentent une évolution comparable aux lésions humaines. Les étapes de développement de l'athérosclérose humaine peuvent être retrouvées, des stries lipidiques à l'âge de 4 à 6 mois jusqu'aux plaques fibrolipidiques apparaissant vers l'âge de 13 à 15 mois. Comme chez l'homme, des cellules spumeuses vont être retrouvées dans les plaques. Les lésions vont plutôt apparaitre au niveau des artères coronaires et de l'aorte. (BOURDILLON M.C. et al., 2003, DREW A. , 2001) (BAROUKH N. and al., 2003)

b Le lapin de l'hôpital Saint Thomas

Le lapin de l'hôpital Saint Thomas concerne une lignée de lapins sélectionnés pour leur apport dans les recherches d'une dislypoprotéinémie humaine particulière appelée *hyperlipidémie familiale combinée* (Brousseau and Hoeg, 1999). Les recherches effectuées apportent notamment des informations sur l'aspect génétique de la maladie mais aussi pour l'élaboration d'une thérapie génique des dislypoprotéinémies congénitales humaines.

La dislypidémie exprimée par ces lapins se traduit par une augmentation des LDL et des VLDL. Les lésions visibles des ces animaux sont comparables à celles d'animaux soumis à un régime riche en cholestérol : ce sont des lésions de type athéromateuses sous formes de stries lipidiques diffuses. (Hadjiisky et al., 1991)

c Le rat SHR

Le Rat Spontanément Hypertendu (SHR) est le modèle de rat le plus utilisé. Il ne développe que très peu de lésions lorsqu'il est alimenté normalement. En revanche suite à un régime athérogène, le rat SHR développe des artériopathies adaptatives ou dégénératives. (Limas et al., 1980)

C'est un très bon modèle animal pour étudier l'influence de l'hypertension sur l'athérosclérose. (Pinto et al., 1998).

d Le rat corpulent

Le Rat Corpulent a été obtenu par croisement d'un Rat Spontanément Hypertendu et d'un Rat Normotendu Sprague-Dawley. Outre son hypertension spontanée, il présente une obésité spontanée et une hyperlipidémie accompagnée d'une augmentation importante des VLDL.

Des lésions athéromateuses non induites apparaissent notamment au niveau des artères abdominales. Elles sont proches de celles décrites chez l'homme avec une forte prédominance des cellules spumeuses. Elles évoluent rapidement pouvant provoquer des thromboses. Il s'agit d'un modèle d'athérosclérose intéressant en particulier du fait de ses similitudes avec l'homme à savoir la présence de facteurs de risques tels que l'obésité et l'hypertension. (Koletsky, 1975)

e La souris C57BL/6

La lignée de souris C57BL/6 a été sélectionnée par croisement et elle permet de remédier à la sensibilité variable de la souris aux lésions d'athérosclérose. Chez la souris sauvage, le développement des lésions est très variable alors que la souris C57BL/6 est particulièrement sensible au régime modifié et développe des lésions d'athérosclérose plus reproductibles. (Daugherty, 2002)

f Le porc miniature Yucatan

Il s'agit d'une espèce sélectionnée très docile et qui, comme chez le grand porc, a des lésions athéromateuses proches des lésions humaines. Il a été sélectionné pour sa petite taille et sa bonne réponse aux régimes pro-athéromateux. (DREW A. , 2001)

g Le porc IHLC

Les porcs Inherited Hyper-LDL Cholesterolemia (IHLC) ont été sélectionnés par l'équipe de RAPACZ en 1986 (Prescott M. F. and al., 1991). Ce sont les seuls porcs qui développent une hypercholestérolémie sans alimentation riche en cholestérol. Trois mutations génétiques ont été décelées dans cette lignée pour expliquer cette particularité. Elles concernent toutes des apolipoprotéines : une mutation concerne l'apolipoprotéine B semblable à celle de l'homme et les deux autres concernent des apolipoprotéines spécifiques au porc. Ces modifications provoquent l'apparition de plaques au niveau des artères coronaires au bout de quelques mois de vie seulement. (Rapacz J. and al., 1986)

3. *Modifications génétiques*

Les modifications génétiques ont permis d'explorer plus en profondeur les mécanismes de l'athérosclérose, en parallèle des études menées par modification de l'environnement ou par sélection génétique.

Elles ont ainsi permis de mieux comprendre les fonctions des différentes protéines impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines et les rôles des facteurs protéiques dans les différentes étapes de l'athérosclérose. (BAROUKH N. and al., 2003)

a Technique d'induction des lésions

L'athérosclérose étant un phénomène complexe faisant intervenir de nombreux facteurs, notamment protéiques, différentes techniques de modifications génétiques ont été mises au point pour obtenir des modèles animaux intéressants permettant une meilleure analyse de l'ensemble des éléments en cause dans le mécanisme complexe d'induction de l'athérosclérose.

Ainsi les techniques utilisées pour l'induction des lésions peuvent être regroupées en quatre ensembles :

i. Transgénèse classique ou additive

Cette technique consiste en l'introduction d'un ADN dans le génome d'un organisme vivant. Le brin d'ADN est injecté directement dans le noyau d'un œuf fécondé alors qu'il n'est qu'au stade une cellule. Ainsi, lors de sa multiplication, toutes les cellules filles contiendront ce brin d'ADN. Il s'agit d'une technique bien maitrisée. L'inconvénient

principal provient du fait que l'insertion de ce brin et le nombre de copie n'est pas contrôlé. En effet, chaque introduction de gène sera à l'origine d'une lignée différente. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

ii. Inactivation d'un gène endogène ou Knock out

Cette technique est fondée sur la technique de recombinaison homologue d'une cassette d'ADN contenant un gène d'intérêt incomplet ou un autre gène afin que celui-ci ne s'exprime pas. Cela est possible par l'introduction d'un vecteur contenant la cassette d'ADN dans des cellules souches embryonnaires. Les cellules clones positives ainsi créées sont réinjectées dans un blastocœle d'embryon de souris. Ces embryons donnent naissance à des souris chimériques dont certains tissus dérivent des cellules originelles et d'autres des cellules réimplantées. Toutes les souris n'intègreront pas le gène d'intérêt ce qui nécessite une sélection afin de créer une lignée. Cette technique est à ce jour, réalisée uniquement chez la souris car il s'agit de la seule espèce qui donne des cellules souches fonctionnelles. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

iii. Expression conditionnelle des gènes

Des systèmes d'induction de gènes permettant l'expression ou l'inhibition d'un gène ont été créés. Ces systèmes conditionnels fonctionnent grâce à un élément extérieur (comme la tétracycline ou la recombinase CRE) qui va être à l'origine de cette activation ou inhibition du gène. La molécule utilisée la plus classiquement est la tétracycline. Il est ainsi possible d'introduire un gène dont on peut contrôler l'expression dans un tissu précis, à un âge donné et sur une période définie. (Sauer and Henderson, 1988)

iv. Addition provisoire d'un gène par infection virale

Cette technique consiste en une expression transitoire d'un transgène intégré dans une cellule par un vecteur viral. Cette expression sera transitoire dans le temps (quelques jours à quelques mois) mais de façon intensive. Cette technique étant provisoire, elle ne permet pas la création de lignées. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

Il est important de noter que malgré ces modifications génétiques, l'adjonction d'un régime riche en cholestérol est souvent nécessaire pour induire des lésions d'athérosclérose {XIAO, 2001, Genetically manipulatede models of atherosclerosis in mice}. Il existe de très nombreux modèles créés à partir de ces techniques de modifications génétiques. Certains modèles ont pu être bien étudiés et reproduits de façon identique pour créer des lignées permettant le perfectionnement des connaissances notamment dans le transport du cholestérol par les lipoprotéines à l'origine des dyslipoprotéinémies ainsi que sur la cascade

inflammatoire au niveau de la paroi vasculaire en lien avec les mécanismes d'athérosclérose. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

b Apports des modèles génétiquement modifiés

Les apports du modèle génétiquement modifié ont été nombreux. Ils ont surtout été permis par le modèle murin. Celui-ci a entre autres mis en évidence le rôle des différents facteurs de risques de l'athérosclérose que sont l'hypercholestérolémie, le diabète, la fumée de cigarette, le sexe masculin et l'hypertension. (XIAO Q., 2001). Le modèle murin est particulièrement utilisé lors de modifications génétiques car son génome est parfaitement connu. De ce fait, la majorité des protéines d'intérêt ont pu être étudiées, que ce soit les apolipoprotéines (molécule qui donne son identité aux lipoprotéines) ou bien les récepteurs (qui jouent un rôle clé dans la répartition du cholestérol dans le corps) mais aussi des enzymes (nécessaires au fonctionnement du métabolisme des lipides, et plus particulièrement celles du cycle des lipoprotéines) (BAROUKH N. and al., 2003, Daugherty, 2002).

De nombreuses modifications génétiques provoquent une augmentation de la sensibilité de la souris à l'athérosclérose avec le développement de plaques plus ou moins importantes. Les modifications génétiques étudiées sont très nombreuses. En voici quelques-unes qui ont permis des avancées conséquentes dans la compréhension des mécanismes de l'athérosclérose :

i. Modification des apolipoprotéines

Les modèles animaux génétiquement modifiés ont permis d'étudier et de comprendre les particularités des différentes apolipoprotéines et de mettre en exergue leur diversité. Les modifications des apolipoprotéines les plus impliquées dans l'athérosclérose concernent surtout les apoprotéines B et les E.

L'apoprotéine B (apoB) est importante du fait de son action dans le métabolisme des LDL et des VLDL. Son augmentation conduit rapidement à une augmentation des risques cardiovasculaires. Les souris transgéniques qui expriment l'apoB humaine sont beaucoup plus sensibles à l'athérosclérose que les souris normales lorsqu'elles sont soumises à un régime enrichi en cholestérol. (Daugherty, 2002)

L'apoprotéine E (apoE) est présente à la surface des chylomicrons, des VLDL et des HDL. L'apoE est présente sous trois isoformes chez l'homme, l'apoE2, l'apoE3 et l'apoE4. Des souris modifiées qui expriment l'apo E2 et l'apo E3 humain présentent une augmentation de la concentration en VLDL associée à des lésions lors de régime riche en cholestérol.

Des souris apoE-/- ont été créées par inactivation de leur gène endogène. Ces souris présentent une proportion importante en VLDL sous régime normal. Sous régime modifié, l'hypercholestérolémie est sévère et les lésions se développent beaucoup plus rapidement avec une répartition localisée à de nombreuses artères.

ii. Modifications des récepteurs

Dans la première partie, nous avons vu l'importance des récepteurs cellulaires impliqués dans le mécanisme de l'athérogénèse. On différencie notamment les récepteurs « *natives* », qui captent les LDL non modifiées et les récepteurs « *scavenger* » qui ont une spécificité plus large et permettent l'entrée de LDL oxydées dans la cellule. Les modifications de ces récepteurs vont permettre de créer des modèles intéressants.

L'impact du récepteur *scavenger* sur l'évolution de l'athérosclérose a été mis en exergue par l'élaboration de souris déficientes en récepteur native ($LDLR^{-/-}$) créées par recombinaison homologue. Le cholestérol plasmatique est spontanément très élevé. Sous régime riche en cholestérol, celui-ci augmente massivement à cause du défaut de clairance des LDL. Cette nette augmentation sera à l'origine d'apparition massive de plaques d'athérome. Ceci correspond au phénomène qui intervient lors de l'hypercholestérolémie familiale humaine, maladie pour laquelle elle sera un très bon modèle. (BOURDILLON M.C. et al., 2003) (BAROUKH N. and al., 2003)(XIAO, 2001)

iii. Modification des enzymes

L'étude des enzymes correspond à la troisième grande catégorie des protéines étudiées par le modèle murin génétiquement modifié. Quatre enzymes ont été particulièrement analysées.

La lipoprotéine lipase (LPL) permet le clivage des triglycérides, des VLDL et des chylomicrons. Cette affinité spécifique avec les deux lipoprotéines est liée à sa capacité à se lier à l'apoprotéine C II. La surexpression de LPL par des souris transgéniques provoque une augmentation délétère des LDL. Les souris déficientes en LPL (LPL-/-) décèdent rapidement suite à une très forte hypertriglycéridémie. (BAROUKH N. and al., 2003)

La Lipase Hépatique (LH) hydrolyse les triglycérides et les phospholipides des HDL au niveau du foie. Une surexpression chez la souris aura pour conséquences une diminution des HDL et secondairement une apparition non systématique des lésions d'athérosclérose. Par contre, son déficit chez la souris LH-/- sera bénéfique car il augmentera le taux de HDL. (BAROUKH N. and al., 2003)

La lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) est liée aux HDL et catalyse l'estérification du cholestérol. Les souris génétiquement modifiées surexprimant cette protéine ont une sensibilité accrue à l'athérosclérose liée au taux d'esters de cholestérol excepté si elles sont également mutées pour la Protéine de Transfert des esters de Cholestérol (CETP). Ces deux enzymes sont en effet complémentaires et augmentent la capture de l'excès de cholestérol par le foie, seul organe capable de le cataboliser pour l'éliminer.

Les modèles génétiquement modifiés ont permis de mettre au point des modèles animaux d'athérosclérose intéressants et bien documentés. Ils ont également permis de mieux comprendre les fonctions et les régulations des différentes protéines impliquées dans les mécanismes de l'athérosclérose. Ils ont permis de tirer des enseignements sur l'intérêt de protéines potentiellement bénéfiques dans le traitement de l'athérosclérose humaine. Les souris génétiquement modifiées sont ainsi devenues des acteurs incontournables pour de nombreuses études et notamment en thérapie génique. La combinaison des différents modèles animaux d'athérosclérose permet de mieux comprendre les mécanismes toujours plus complexes de la maladie.

D. **Choix de l'espèce**

1. *Modèle idéal*

Un modèle idéal est un animal non humain qui présente des lésions similaires aux lésions humaines que l'on souhaite étudier (DHANYA S.P. and C.G., 2008). Dés lors, le modèle animal doit répondre à quelques exigences scientifiques. Les études utilisant des modèles animaux sont très réglementées et doivent répondre aux législations en vigueur, concernant notamment la règle des 3R (RUSSELL W. and R., 1959).

D'un point de vue plus technique, il est important de souligner que les animaux nécessitent une observation particulière.

En tenant compte de ces paramètres, voici les principales qualités que doit avoir ce modèle idéal (DHANYA S.P. and C.G., 2008, Cefalu and Wagner, 1997):

- Les lésions doivent reproduire le mieux possible les lésions décrites chez l'homme : une proximité anatomique, physiologique et métabolique entre le modèle et l'homme est donc nécessaire.

- Le modèle doit être pratique d'un point de vue technique : avoir une taille correspondant aux nécessités de l'étude et être facilement manipulable et sociable.

- Le coût d'acquisition et d'entretien ne doit pas être prohibitif.

Afin de remplir les premières exigences, et de répondre aux critères d'un modèle idéal d'athérosclérose, il doit : (Cefalu and Wagner, 1997, DHANYA S.P. and C.G., 2008, Philippe, 2006)

- Développer des lésions lorsqu'il reçoit une alimentation proche de celle de l'homme

- Développer progressivement ses lésions au cours de sa vie

- Développer les symptômes de la maladie

- Présenter les six stades de la maladie avec ses complications éventuelles, chaque stade devant présenter les mêmes caractéristiques par rapport à l'homme

- Posséder un profil lipoprotéique semblable à celui de l'homme

Aucun modèle ne peut répondre à tous ces paramètres, le modèle idéal n'est donc que théorique. Ainsi, il est nécessaire d'adapter le modèle en fonction des besoins de l'étude afin qu'il soit le plus pertinent possible.

2. *Avantages et inconvénients des différentes espèces*

a Les oiseaux

Comme nous l'avons vu, le premier avantage du modèle aviaire est lié à sa grande sensibilité à l'athérosclérose. (ANDERSON J.L. , 2012)

Parmi les oiseaux, la dinde, le poulet, la caille et le pigeon développent une athérosclérose importante. Ils ont été utilisés très tôt et couramment comme modèle d'athérosclérose.

L'aspect et la localisation (aorte à la base du cœur et gros vaisseaux) similaires aux lésions trouvées chez l'homme en font des modèles d'autant plus intéressants. De même, la possibilité d'obtenir des stades très avancés de la maladie renforce encore leur intérêt. En outre, le pigeon présente l'avantage de développer des lésions dont la topographie et le stade seront prévisibles. Cette caractéristique en fait un modèle génétique d'autant plus intéressant qu'il ne sera pas nécessaire de lui imposer un régime particulier pour induire les lésions. (ANDERSON J.L. , 2012)

Les oiseaux utilisés comme modèle sont généralement faciles à acquérir et à manipuler. Leur coût est aussi un avantage.

Les inconvénients des oiseaux résident dans leur mode alimentaire différent de celui de l'homme et dans leur petite taille qui les rendent peu maniables. De plus, et notamment chez les pigeons, l'analyse des lésions devient difficile de part le diamètre réduit de leurs artères. (Clarkson et al., 1959). Les infections virales qui apparaissent régulièrement lors du développement de l'athérosclérose compliquent également le modèle (Xiangdong L. and al., 2011).

b Les rongeurs

Dans un premier temps, la difficulté à provoquer des lésions d'athérome et le profil lipoprotéique éloigné de celui de l'homme ont écarté les rongeurs des modèles d'étude. Cependant, étant des modèles animaux peu onéreux, faciles d'entretien et physiologiquement bien connus, des études ont été menées pour développer des animaux sensibles et ainsi inverser cette tendance. (DREW A. , 2001)

Les rongeurs ont l'inconvénient d'être petits et dont la chirurgie sur les vaisseaux conduit généralement à des échecs. Ils présentent des vaisseaux de petites tailles dont la morphologie est différente de celle de l'homme avec l'absence de vasa vasorum et une diminution de l'épaisseur de la média. (DREW A. , 2001)

Etant donné leur durée de vie courte, ils présentent un métabolisme rapide. Leur faible coût permet d'étudier un nombre suffisant d'animaux lors de chaque étude en particulier pour les sacrifier régulièrement afin de réaliser des prélèvements, histologiques notamment. (DHANYA S.P. and C.G., 2008)

La souris étant bien connue génétiquement, elle est devenue un modèle d'étude incontournable pour l'étude des gènes responsables de la sensibilité à l'athérosclérose (DREW A. , 2001). Des souches consanguines sont commercialisées, permettant ainsi une reproductibilité des expériences. Quelques souches de souris sont sensibles à l'athérosclérose et développent des infiltrations lipidiques artérielles après administration d'un régime athérogène. Les travaux chez la souris ont permis d'améliorer la compréhension du rôle des gènes humains dans l'athérosclérose, notamment concernant la régulation des lipides circulant ainsi que l'implication des phénomènes inflammatoires. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

c Le lapin

Le lapin est un des premier modèles utilisé pour l'athérosclérose et reste un des plus répandu car il présente de multiples avantages. Même s'il développe peu de lésions spontanées, le lapin répond très bien à un régime riche en cholestérol. En quelques jours il développe une hypercholestérolémie élevée. De plus, les lignées sélectionnées apportent une sensibilité supplémentaire et une facilité d'utilisation, notamment avec la sélection de la lignée New Zealand White qui reste la plus utilisée (Xiangdong L. and al., 2011).

Néanmoins, les lapins ne supportent pas les régimes riches en cholestérol sur une longue durée, l'hépatotoxicité qui en résulte étant à l'origine d'une mort rapide (Yanni, 2004). Les lésions qui apparaissent chez le lapin âgé (à partir de 3 ans) sont très fibrosées et très différentes de celles présentes chez l'homme. (Xiangdong L. and al., 2011).

Les lésions riches en cellules spumeuses ressemblent aux stries lipidiques qui se développent dans l'espèce humaine. Par contre, les lapins ne développent pas de plaques comparables à celles de l'homme. (Getz and Reardon, 2012)

La taille des artères étant plus importante chez le lapin par rapport aux rongeurs, des techniques d'inductions locales peuvent être réalisées. Cela leur donne un avantage

considérable sur l'utilisation des rongeurs. Ces techniques permettent de créer des lésions de grandes tailles, impossibles à réaliser par le seul régime hypercholestérolémiant (Yanni, 2004).

Le lapin reste un animal de petite taille, donc facilement manipulable et d'entretien. Son coût est faible. Par contre, son alimentation herbivore l'éloigne du régime omnivore de l'homme. Malgré une bonne connaissance du modèle, sa manipulation génétique reste plus compliquée que celle de la souris (Getz and Reardon, 2012).

d Les porcs

Ce sont des animaux intéressants pour leurs ressemblances physiologiques avec l'homme. Leur grande taille est un avantage concernant la chirurgie vasculaire, bien plus évidente que sur les petits mammifères. Ils développent une athérosclérose similaire dans la topographie et la morphologie des lésions. De plus leur profil lipidique est proche du profil lipidique humain (DREW A. , 2001)

Ce sont des animaux faciles à obtenir mais difficiles à entretenir. L'hébergement, la quantité de nourriture et la manipulation sont autant d'obstacles à leur utilisation. La sélection de races miniatures permet de diminuer ce type de problème. Les modèles miniatures ont cependant un coût non négligeable. De plus, il est compliqué de travailler sur de grandes cohortes d'animaux. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

e Les primates non humains

Le modèle primate est très intéressant pour sa proximité avec l'homme. Ses ressemblances phylogénétiques sont des paramètres primordiaux pour le choix de l'espèce. Sa taille permet la réalisation de techniques chirurgicales angioplastiques intéressantes. Certaines espèces développent des lésions spontanées et la plupart répondent très bien à un régime riche en cholestérol. De plus, la possibilité d'obtenir des singes déficients en récepteurs à LDL en font un modèle attirant (Xiangdong L. and al., 2011). Comme chez l'Homme, des différences entre les sexes sont présentes et il est de ce fait possible d'étudier les relations entre les hormones sexuelles (notamment leurs variations cycliques) et la sensibilité à l'athérosclérose (Shively and Clarkson, 1994)

Toutes les espèces de primates ne présentent pas la même sensibilité à l'athérosclérose. Par exemple, les singes du nouveau monde (ou Platyrrhiniens) développent des lésions de façon inconstante avec une répartition différente de la répartition humaine. Par contre, les singes de l'ancien monde (ou Catarrhiniens) présentent des ressemblances importantes avec l'homme en particulier en ce qui concerne la topographie des lésions athéromateuses et le profil lipoprotéique. (DREW A. , 2001)

Cependant, le modèle primate peut paraitre aussi très contraignant à cause de la réglementation, des problèmes éthiques, de leur prix élevé, de leur manipulation ainsi que de l'hébergement qui nécessite d'être adapté. (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

La hiérarchie peut influencer la sensibilité des individus à l'athérosclérose et ainsi être à l'origine de variations individuelles lors du développement des lésions (Shively and Clarkson, 1994).

Un inconvénient majeur provient de leur tendance à développer des insuffisances rénales importantes suite au régime enrichi en cholestérol. Les lésions ainsi créées seront à l'origine de mort prématurées parmi les sujets étudiés. (Xiangdong L. and al., 2011)

Les macaques de l'espèce Macaca fascicularis sont parmi les singes les plus réceptifs à développer des lésions d'athérosclérose notamment myocardiques. Ils sont plus réceptifs notamment que Macaca Mulatta pourtant très utilisée. (Bond et al., 1980)

Ainsi, les animaux présentent peu de lésions spontanées, c'est pourquoi des stratégies systémiques d'induction de lésions sont nécessaires comme : les modifications environnementales, les sélections génétiques ainsi que les modifications génétiques.

Ces stratégies d'athérogénèse expérimentales visent à induire des lésions chez les animaux, qu'ils soient athérosensibles ou athérorésistants.

La principale technique utilisée lors de modifications environnementales consiste à nourrir les animaux avec un régime riche en cholestérol. Ce régime enrichi en graisse provoque des lésions chez de nombreuses espèces comme le lapin, le porc et le singe.

La sensibilité à l'athérosclérose variant d'un individu à l'autre, des sélections génétiques d'individus athérosensibles ont permis de créer des lignées intéressantes pour les chercheurs. Le lapin Watanabe et le rat SHR en sont les meilleurs représentants car les plus utilisés dans l'étude de l'athérosclérose.

Les modifications génétiques principalement réalisées chez la souris, dont le génome est parfaitement connu, ont permis de créer des lignées murines athérosensibles à condition cependant de les nourrir avec un régime riche en cholestérol.

Le choix de l'espèce ainsi que de la stratégie d'induction des lésions doivent être corrélés à l'objectif de l'étude car les avantages et les inconvénients de chaque modèle diffèrent.

III) DETECTION ET ANALYSE DE L'ATHEROSCLEROSE CHEZ LE SINGE

Le dépistage de l'athérosclérose chez le singe comme chez les autres animaux utilise des techniques qui ont été développées pour l'homme et sont ensuite adaptées au modèle

choisi. Les procédés développés sont très nombreux, ceux qui présentent un aspect pratique ou informatif sont privilégiés.

Chez l'homme, le diagnostique de l'athérosclérose d'un sujet non symptomatique est d'abord fondé sur des analyses biochimiques peu invasives et simples à réaliser. Les paramètres mesurés sont la glycémie, le cholestérol et les lipoprotéines ainsi que les triglycérides. Ces valeurs permettent d'évaluer les risques du sujet (COUDERC R. , 2006).

Les examens d'imagerie sont d'excellents compléments aux dosages biochimiques. L'examen de référence est la coronarographie, même si le plus pratiqué reste l'échographie. Ils permettent d'apporter de nombreuses informations qui, si elles se révèlent être insuffisantes, peuvent être complétées par d'autres examens plus approfondis comme l'échographique endovasculaire, le scanner ou l'IRM (SPAULDING C. and al., 2003).

A. **Paramètres biologiques**

1. *Le cholestérol total*

Le cholestérol est un élément clé dans le mécanisme de l'athérosclérose. On sait qu'il est nécessaire à la formation de plaques d'athérome. Un régime riche en cholestérol sera un facteur de risque important de la maladie. Néanmoins chez l'homme, le lien entre hypercholestérolémie sérique et athérosclérose est un sujet connu et contesté car il semble qu'il n'y ait pas de corrélation directe entre la valeur du cholestérol sérique et l'intensité de la maladie (Teramoto T. and al., 2007). Il est important de rajouter que le dosage du cholestérol total ne reflète pas les proportions de chaque lipoprotéine. La cholestérolémie est une variable qui peut évoluer très rapidement alors que les lésions d'athérosclérose, même si elles peuvent régresser chez le singe, sont beaucoup plus stables (Small D. M. and al., 1984). Une valeur de cholestérol donne une image ponctuelle du métabolisme des lipides, alors que les lésions d'athérosclérose correspondent à une empreinte à plus long terme de la sensibilité du sujet aux différents facteurs de risques.

En médecine humaine, ce dosage est souvent réalisé afin de mettre en évidence de façon simple une **sensibilité potentielle à l'hypercholestérolémie** et donc un **éventuel risque** de développer des plaques d'athéromes (Teramoto T. and al., 2007). Le dosage du cholestérol est une analyse fréquente, intéressante et peu contraignante car de nombreux laboratoires sont équipés d'analyseurs permettant le dosage du cholestérol (DALLONGEVILLE J. and al., 2010).

Le dosage du cholestérol chez les animaux est un paramètre utilisé couramment. Il est particulièrement intéressant sur les modèles induits par un régime riche en cholestérol. En effet, cette technique d'induction est consiste à provoquer une hypercholestérolémie chez le sujet. Il permet alors de suivre la sensibilité et la réceptivité de l'animal au régime proposé.

Les valeurs standard du cholestérol dépendent de l'espèce, voire même des sous espèces. Par exemple chez les singes (Rick Lee D. and CJ.), les valeurs standard proposées chez les Cynomolgus varient entre 134 et 202 mg/dl alors qu'elles ne se situeront qu'entre 27 et 167 mg/dl chez la femelle Babouin.

Les études réalisées avec des singes nourris avec des régimes riches en cholestérol mettent en évidence des taux très élevés en cholestérol, dépassant nettement les valeurs standard proposées par RICK, atteignant parfois 700 mg/dl (Small D. M. and al., 1984).

Malgré la corrélation incertaine entre la cholestérolémie et les lésions d'athérosclérose, certaines études tendent à montrer que chez le singe, la régression de l'athérosclérose débute à partir d'un seuil précis de cholestérolémie estimé à 200 mg/dl. Ainsi, si un singe suit un régime athérogène de plusieurs mois et qu'il est ensuite nourri avec un aliment physiologique, la diminution de la cholestérolémie sera suivie d'une régression des lésions. Ce phénomène apparait lorsque le cholestérol plasmatique redescend sous la valeur seuil (Small D. M. and al., 1984) (Wagner W. D. and al., 1980).

Le dosage du cholestérol est ainsi une mesure prédictive lors d'induction de lésions d'athérosclérose chez l'animal. Son suivi est notamment très pertinent car il permet d'observer les évolutions de ce paramètre chez le sujet.

2. *Les lipoprotéines*

Le dosage des lipoprotéines est complémentaire du dosage du cholestérol. Chez l'homme, on sait que la proportion des LDL est plus importante que celle des HDL. Il s'agit d'ailleurs d'un des facteurs qui explique sa sensibilité importante. Des seuils de LDL et de la proportion LDL/HDL ont ainsi été calculés pour évaluer précisément les risques encourus par les patients (Teramoto T. and al., 2007).

Comme nous l'avons vu chez certaines espèces animales, même si le cholestérol plasmatique peut être élevé, peu de lésions d'athérosclérose sont visibles. En effet, la proportion des différentes lipoprotéines circulantes est différente par rapport à l'homme. Les animaux présentent généralement une proportion faible de LDL au profit des HDL. Ces derniers étant athéroprotecteurs, leur proportion doit rester faible pour que des lésions d'athérosclérose se développent. Comme nous avons pu le voir sur la figure 8 (paragraphe II.B.2.a page 43), c'est la **proportion de chacune des lipoprotéines** qui indique la propension des différentes espèces animales à développer des lésions d'athérosclérose.

Ainsi, comme pour le cholestérol, l'analyse des lipoprotéines est fondée sur l'évolution de leur concentration au cours du temps ainsi que sur leur proportion relative.

3. *Les triglycerides*

Les triglycérides ne sont pas directement athérogènes. Ils n'entrent jamais dans les mécanismes de l'athérosclérose. Cependant ils représentent des biomarqueurs intéressants car ils s'associent avec les résidus des lipoprotéines athérogènes et avec l'apo C (apolipoprotéines des chylomicrons et des VLDL, deux lipoprotéines corrélées aux LDL). Une hypertriglycéridémie est associée à une augmentation des VLDL et à une diminution de leur élimination associée à une augmentation des LDL qui a pour conséquence une augmentation des risques athérogènes.

Chez l'homme, l'augmentation des triglycérides sériques est corrélée à l'augmentation du risque de développer des maladies coronaires (Talayero and Sacks, 2011). Aucune étude n'a pour l'instant démontrée une relation entre une diminution du taux des triglycérides et une diminution du risque cardiovasculaire (Talayero and Sacks, 2011).

Dans l'analyse de l'athérosclérose chez le singe, le dosage des triglycérides est beaucoup moins répandu que le dosage du cholestérol et des lipoprotéines. Cependant, certaines études montrent que, comme chez l'homme, une augmentation du taux des triglycérides plasmatiques est le témoin d'une augmentation des risques cardiovasculaire (Vinson A. and al., 2013). Là encore, l'analyse de l'évolution des triglycérides est plus intéressante qu'un dosage ponctuel qui ne permet pas de mettre en évidence une augmentation du risque cardiovasculaire.

Les valeurs normales théoriques chez le singe se situent entre 35 et 123 mg/dl (Rick Lee D. and CJ.).

Ainsi, les dosages du cholestérol, des lipoprotéines et des triglycérides apparaissent comme des éléments de suivi régulier du risque de développer des lésions d'athérosclérose. Ils ont l'avantage d'être simples à mettre en œuvre.

Les variations de ces trois éléments sont en général relativement lentes à se mettre en place, les dosages doivent donc être réalisés de façon régulière mais pendant toute la durée de l'étude. En revanche, ils ne donnent aucune information sur le stade des différentes lésions présentes chez les animaux.

B. **Imagerie médicale**

L'imagerie médicale est devenue chez l'homme un outil très répandu et nécessaire pour quantifier les lésions d'athérosclérose. Dans le domaine de la recherche comme dans celui de la médecine courante, les méthodes non invasives proposées par l'imagerie médicale sont devenues incontournables, tant pour poser un diagnostic que pour suivre l'évolution de la maladie.

Chez l'homme de nombreuses techniques existent, les lésions pouvant se localiser sur des sites d'accessibilité variable. Les lésions carotidiennes, par exemple, sont accessibles par un simple examen échographique alors que les lésions situées plus en profondeur comme celles situées au niveau coronaire ou intra crâniennes nécessitent des examens comme l'angiographie ou l'IRM. Les différentes techniques présentent des avantages et des inconvénients propres qu'il convient d'analyser selon la localisation souhaitée.

1. *L'échographie*

L'échographie est la seule technique non invasive qui permet d'explorer en routine les lésions carotidiennes chez l'homme. Elle est généralement couplée à un Doppler qui fournit une évaluation hémodynamique des sites étudiés.

a Principes du fonctionnement de l'échographie

L'échographie est fondée sur la réflexion d'ondes ultrasonores émises puis captées par une sonde. La réflexion des ondes émises dépend du tissu traversé qui est lui-même défini par une vitesse de propagation. Les vitesses de propagation résultent de la compressibilité ou dureté du milieu. Ces vitesses sont notamment connues pour différents milieux types (Tab III).

Tableau III : Vitesse de propagation des ondes dans différents milieux
(BARTHEZ P. , 2002)

Milieu	**Vitesse de propagation**
Air	330 m/s
Eau	1480 m/s
Tissus mous	**1540 m/s**
Os	4080 m/s

La réflexion, ou écho, est réceptionnée à la sonde après un temps de latence correspondant à son temps de déplacement dans le milieu traversé. La proportion d'ultrasons réfléchis dépend du milieu traversé mais aussi de la différence d'impédance acoustique à l'interface entre deux milieux.

D’autres phénomènes interagissent pour perturber la lecture des ondes reçues. Ces phénomènes, notamment liés à la réfraction des ondes, à la dispersion et à l’atténuation des ondes, sont à l’origine d’artefacts (BARTHEZ P. , 2002).

Une fois reçues par la sonde, les ondes sont transformées en informations électriques. Un logiciel complexe les analyse et restitue à l’écran une image des différents tissus traversés.

La représentation se fait par une image en nuance de gris. Plus les structures sont échogènes, c'est-à-dire possédant une dureté et une vitesse de propagation importante, plus l’image formée est blanche. Les tissus liquidiens sont donc très sombres alors que les tissus durs comme les os sont plus proches du blanc. L’air ainsi que les tissu de consistance osseuse arrêtent les ultrasons et forment ainsi un obstacle à la reconstitution de l’image au-delà de ces éléments.

Différents modes existent, permettant de rajouter des informations à partir du système présenté (BARTHEZ P. , 2002) (STEFANIDIS C. , 2011):

- **Mode B** : il s’agit du mode le plus classique, il représente l’intensité d’un signal par la brillance d’un point. Une image en deux dimensions est réalisée lorsque plusieurs faisceaux sont utilisés en parallèle ou lorsque le même faisceau est utilisé dans des directions différentes (fig 10).

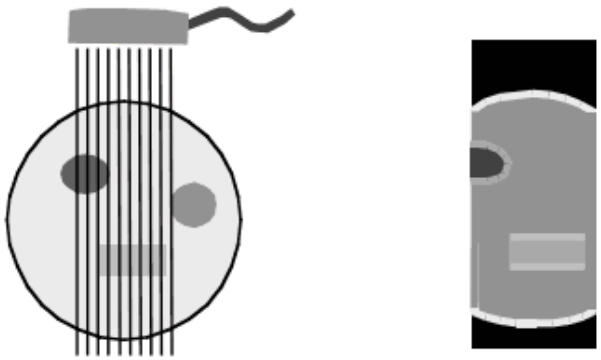


Figure 10 : présentation du mode B
(BARTHEZ P. , 2002)

Au niveau des artères, le mode B permet de mesurer l’épaisseur des parois et d’observer l’étendue des lésions.

- **Mode TM** : il s’agit de la représentation des variations de la position et de la brillance des échos en fonction du temps. Il est surtout utilisé en échocardiographie pour observer les mouvements des parois et des valvules (fig 11).

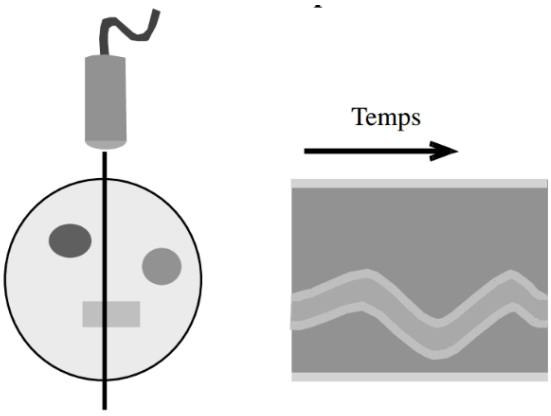


Figure 11 : Présentation du mode TM
(BARTHEZ P. , 2002)

- **Mode Doppler** : il s'agit d'un mode particulièrement adapté à l'étude des régions cardio-vasculaires. Il permet d'étudier la vitesse du flux artériel et son débit. Il analyse les échos renvoyés par les globules rouges par rapport à l'axe de la sonde. Il est nécessaire d'incliner la sonde pour que son axe forme un angle inférieur à 90° avec l'axe de déplacement des cellules sanguines (fig 12). L'écho émis par les cellules selon leur direction va ainsi permettre de calculer leur vitesse. Le Doppler est généralement associé à un codage couleur. Par convention, les flux qui s'approchent de la sonde apparaissent en rouge et ceux qui s'éloignent sont en bleu.

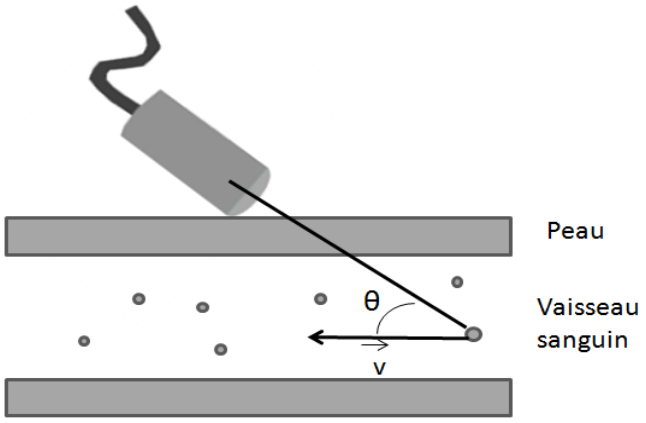


Figure 12: Principe de l'effet Doppler
(BARTHEZ P. , 2002)
v = axe de déplacement du globule rouge ; Θ= angle de l'axe de la sonde avec l'axe de déplacement du globule rouge

Un angle à 90° entre l'axe de la sonde et l'axe du flux ne permet pas de calculer la vitesse du flux et peut être à l'origine d'erreurs. Cette difficulté augmente l'influence de l'opérateur sur la réalisation de l'examen échographique.

b Intérêts de l'échographie vasculaire

Les objectifs des examens Echo-Doppler, chez l'homme sont multiples (TRANQUART, 2000):

- Détecter une des causes d'accident vasculaire cérébral, d'infarctus du myocarde ou d'athérosclérose oblitérante des membres inférieurs

- Identifier les patients cliniquement asymptomatiques mais présentant des lésions d'athérosclérose afin de les traiter chirurgicalement si nécessaire

- Rattacher un évènement (comme un accident vasculaire cérébral) à une lésion de l'artère perfusant la région touchée

En médecine, même si l'échographie peut être utilisée pour mettre en évidence les lésions sur de nombreuses artères, elle reste principalement adaptée au diagnostic des lésions d'athérosclérose carotidiennes. (Crişan, 2012).

Dans le cadre de la prévention des risques, l'Echo-Doppler permet l'identification de zones d'épaississement pariétal et de plaques non occlusives. La technique est principalement fondée sur l'analyse de l'épaisseur de l'intima et de la média de l'artère (BOULON C. et al., 2010).

Même si elle est riche en informations, l'échographie ne permet pas un diagnostic aussi précis que l'analyse histologique. L'épaississement de l'intima et de la media, qu'elle met en évidence, reste cependant un signe d'alerte très important. (BOULON C. et al., 2010)

c Mesure de l'épaisseur intima-média

Chez l'homme, il s'agit d'un facteur important car la mesure de l'épaisseur intima-média reflète l'étendue de la plaque d'athérome. Elle est relativement facile à mesurer au niveau de la paroi distale de l'artère carotide commune et de l'artère fémorale. (SPAULDING C. and al., 2003) (Crişan, 2012).

En mode B de l'échographie, les parois des artères peuvent être définies par deux lignes échogènes. Ces dernières correspondent au contraste limitant les interfaces, de part et d'autre de la lumière du vaisseau. La première ligne sépare la lumière de l'intima et la seconde partage la media de l'adventice. Ces lignes permettent de définir l'épaisseur du complexe intima-media (fig 13).

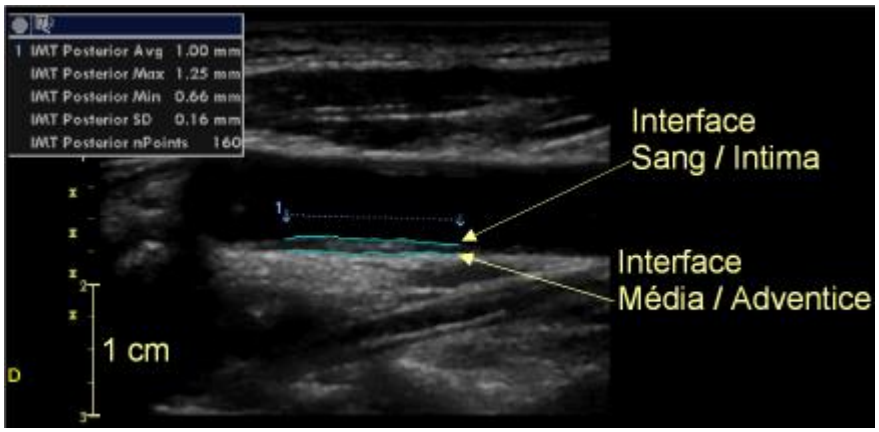


Figure 13: Mesure de l'épaisseur intima-média d'une plaque d'athérome à l'échographie (Antonia and al., 2012)

La mesure de l'épaisseur intima-media reste opérateur-dépendant et pose un problème quant à la reproductibilité. Pour y remédier, des logiciels permettant des mesures semi-automatiques des parois sont largement répandus (BOULON C. et al., 2010).

Chez l'homme, on considère qu'une plaque présente un risque cardiovasculaire lorsque celle-ci provoque un épaississement focal saillant dans la lumière artérielle (BOULON C. et al., 2010):

- d'au moins **0,5 mm**
- ou de **50%** supérieure à l'épaisseur intima media adjacente
- ou ayant une épaisseur d'au moins **1,5 mm même non saillante**

L'évaluation de l'épaisseur intima-media est un bon indicateur du risque coronarien chez l'homme. Cependant l'inconvénient de cette méthode opérateur-dépendant réside principalement dans la nécessité de réaliser les différents examens par le même opérateur avec le même logiciel. (BOULON C. et al., 2010).

d Etude de la sténose

Lors de lésions développées, une sténose peut se mettre en place. Il est alors nécessaire d'en évaluer le degré d'importance. Cette évaluation est réalisée grâce au mode Doppler de l'échographie. La sténose provoque une modification des vitesses du flux qui s'accélère dans sa portion la plus rétrécie (TRANQUART, 2000).

Le Doppler permet de déterminer le degré de sténose et met en évidence certains facteurs péjoratifs comme l'état de la surface de la lésion (TRANQUART, 2000). Les critères de sévérité à l'échographie-doppler en fonction de la sténose sont exposés ci-dessous (tab IV) :

Tableau IV : Critères de sévérité d'une sténose au Doppler
D'après (WEBER S. and al., 2003)

Sténose	Critères de sévérité à l'Echographie-Doppler
20% à 50%	Accélération des vélocités maximales systoliques de 30 à 100% (en prenant comme référence le segment d'amont) et perte du reflux diastolique
50% à 80%	Accélération supérieure ou égale à 100% des vélocités maximales associée à une perte de reflux diastolique
>80%	Mêmes anomalies que précédemment avec retentissement sur le flux en amont et surtout en aval, avec accélération majeure de la vélocité au niveau de la sténose
Occlusion	Absence de flux au niveau du segment occlus avec ralentissement en aval

En pratique, le degré de sténose est exprimé en pourcentage de réduction du diamètre du vaisseau ou en pourcentage de la surface de l'artère. Sur des lésions compliquées, le calcul du degré de sténose devient très complexe, voire impossible.

Ces techniques ont été peu utilisées chez le singe, seules quelques études les mentionnent (Bond et al., 1985). Elles ne sont en revanche quasiment jamais proposées dans le cadre d'une étude portant sur le développement d'un modèle primate sous régime athérogène.

Lorsqu'elle est utilisée, la technique proposée est généralement directement empruntée à celle existant chez l'homme car peu de références existent pour le moment. La taille des artères plus petite que chez l'homme rend l'étude plus difficile chez le singe.

2. La Tomographie par Rayon X (TDM ou Scanner)

Cette technique fondée sur l'absorption des rayons X par les tissus traversés permet une étude globale des lésions du corps entier. Dans le cadre de l'athérosclérose, l'angiographie est plus utilisée. Cette technique couple un scanner et l'injection d'un produit de contraste permettant de visualiser les vaisseaux. Le produit de contraste marque la lumière de l'ensemble des vaisseaux (TOUSSAINT J.F. and al., 2003). Cette technique permet de

repérer les vaisseaux et de quantifier les lésions présentes en observant directement les rétrécissements de leur lumière. Les limites de cette technique sont principalement liées aux défauts d'opacification des artères (SPAULDING C. and al., 2003).

L'angiographie apporte des informations sur des régions non accessibles par échographie. Il s'agit donc d'un examen complémentaire à l'échographie permettant, grâce aux techniques actuelles, d'avoir des images en trois dimensions. L'angiographie sur les singes reste rare car couteuse et encore souvent peu accessible.

3. La Tomographie par émission de positon (TEP)

La TEP (Tomographie par émission de positon ou PET en anglais) repose sur la détection simultanée de deux photons émis dans des directions opposées. Les traceurs sont formées d'un radioélément qui émet des positons et d'une molécule d'intérêt dont on connait les propriétés biologiques et le devenir dans l'organisme. L'annihilation des positons émis produit deux photons à l'origine des rayonnements béta qui sont captés et qui permettent de localiser le traceur. Cette technique est très utilisée en oncologie pour repérer les tumeurs et les métastases (Hag A. M. and al., 2013).

Le choix du traceur dépend de ce que l'on veut mettre en évidence. Un des traceurs les plus communément utilisé dans l'étude de l'athérosclérose est le ^{18}F-fluoro-2-deoxy-glucose (FDG). Il s'agit d'un analogue du glucose qui pénètre dans les cellules au métabolisme actif, comme les cellules inflammatoires. Les macrophages présents dans les lésions athéromateuses vont capter le FDG. Celles-ci vont ainsi émettre plus de photons que la paroi artérielle normale (Gillings, 2013).

Un autre traceur peut être utilisé dans l'étude des plaques d'athérosclérose, il s'agit du ^{11}C-PK11195 (CPK). Ce traceur est un ligand spécifique à une protéine-récepteur périphérique des benzodiazépines et qui est surexprimée sur les cellules actives de la lignée des monocytes/macrophages. Il est utilisé pour marquer l'inflammation des vaisseaux (Gaemperli O. and al., 2012).

N'ayant que quelques dizaines d'années, ces techniques sont récentes en médecine humaine et sont en progression constante. Le TEP scan a été testé chez deux modèles animaux d'athérosclérose. Il s'agit de la souris et du lapin. Les résultats semblent encourageants notamment concernant le FDG chez le lapin car il marque clairement les plaques d'athérome. Néanmoins, les résultats chez le lapin ne sont pas transcriptibles à l'homme. Par exemple, les plaques vulnérables ne peuvent pas être mises en évidence chez le lapin contrairement à l'homme (Hag A. M. and al., 2013).

Le TEP scan reste une méthode rare car chère. De plus, très peu de centres d'imagerie proposent de tels services pour les animaux ce qui en fait un examen peu accessible.

4. *L'échographie intra-vasculaire*

Il s'agit d'une technique d'imagerie invasive qui consiste à faire rentrer une sonde échographique miniature à l'intérieur des vaisseaux. Les sondes utilisées sont axiales, elles captent les ultrasons présents autours de l'axe de la sonde, permettant de visualiser une coupe transversale de vaisseaux sanguins.

Cette technique est, en médecine humaine, généralement réservée à l'étude des artères coronaires. Elle présente l'avantage d'accéder directement à la plaque et donc d'éviter tous les tissus intermédiaires qui diminuent la sensibilité de l'examen.

Il s'agit donc d'un outil de recherche très sensible qui a permis des avancées dans la détection des plaques, dans la compréhension du remodelage pariétal et dans les mécanismes de rupture de plaque (SPAULDING C. and al., 2003).

A ce jour aucune étude chez l'animal n'a utilisé cette technique. Elle permettrait néanmoins, compte tenu de sa sensibilité, d'apporter des informations précises dans la caractérisation des lésions athéromateuses. En particulier dans les modèles primates non humains.

L'utilisation de l'imagerie afin de diagnostiquer l'athérosclérose chez les animaux se développe progressivement et permet, par des méthodes peu ou pas invasives, de connaitre l'étendue des lésions. Il existe encore d'autres techniques d'imagerie non présentées ici permettant de dépister l'athérosclérose comme l'IRM ou l'angioscopie. Cependant, elles n'ont probablement jamais été utilisées chez l'animal pour des raisons techniques et financières.

L'imagerie a pour principale limite de ne pas apporter d'information sur la nature des lésions. Le seul examen qui le permet reste pour l'instant l'histologie.

C. **Histologie des lésions**

L'histologie est la méthode de choix pour diagnostiquer et caractériser l'athérosclérose. Il s'agit du seul examen qui donne un diagnostique de certitude.

L'inconvénient principal du diagnostic par histologie provient de la nécessité d'euthanasier l'animal. En effet, afin d'optimiser l'analyse histologique, celle-ci doit être réalisée en se concentrant sur un maximum de vaisseaux de l'animal.

Différents paramètres permettent d'évaluer les lésions lors d'examens histologiques: (BOURDILLON M.C. et al., 2003)

- Le rapport intima/média ou mesure de l'épaisseur de l'intima et de la média

- Le calcul du pourcentage de la circonférence du vaisseau occupée par les lésions

- La mesure du rapport de l'épaisseur de la chape fibreuse et du cœur lipidique (fig 14)

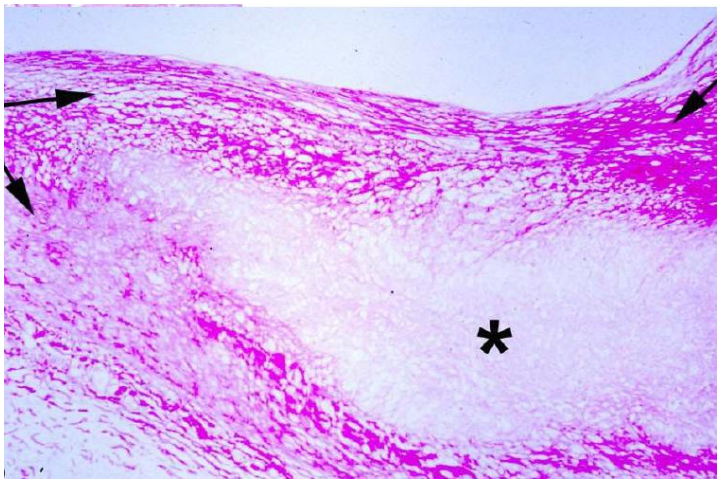


Figure 14: Coupe histologique d'une plaque d'athérome
→ = chape fibreuse ; ✱= cœur lipidique
(Antonia and al., 2012)

Ces mesures peuvent être facilitées par la mise en évidence des différents constituants de la plaque à l'aide de colorations spéciales ou d'anticorps monoclonaux. Par exemple, le collagène est mis en évidence par le *rouge Sirius*, les cellules spumeuses par la coloration *Oil Red O*. Il est aussi possible de s'aider de marqueurs de prolifération cellulaires (antigène cellulaire, bromodéoxyuridine…) pour observer les cellules en division. Ces techniques permettent de mieux caractériser la plaque et notamment les plaques « à risque ».

Dans le cadre de l'analyse de l'athérosclérose chez le singe, bien que l'histologie soit essentielle, l'examen nécropsique peut apporter quelques informations.

Ainsi, les stratégies de détection des lésions d'athérosclérose chez le singe sont fondées sur trois principes différents : le dosage de paramètres biochimiques, l'imagerie médicale et l'histologie.

Le suivi du cholestérol ainsi que la proportion des lipoprotéines circulantes apportent des informations importantes sur le statut lipidique de l'animal et sur sa sensibilité à l'athérosclérose.

La technique d'imagerie la plus fréquemment utilisée dans le diagnostique de l'athérosclérose est l'échographie Doppler, une technique non invasive qui apporte des informations sur la présence de plaques ainsi que sur leur potentiel pouvoir sténosant. D'autres techniques d'imagerie, comme la coronarographie ou le TEPscan, existent chez l'homme mais elles sont encore peu utilisées sur les animaux de laboratoires.

L’histologie reste la méthode de dépistage de référence car pour l’instant c’est la seule technique qui apporte des informations précises sur la nature des lésions d’athérosclérose et qui permet de caractériser les plaques à risque.

DEUXIEME PARTIE :

MISE AU POINT D'UN MODELE PRIMATE D'ATHEROSCLEROSE

Cette étude a été réalisée par la société Cynbiose dans le but de développer des lésions d'athérosclérose sur des singes de l'espèce Macaca fascicularis induites par un régime riche en cholestérol.

L'étude s'est déroulée sur treize mois dans l'animalerie de Cynbiose situées au sein de l'Institut Claude Bourgelat sur le site de VetAgro Sup à Marcy l'Etoile.

Seules des modifications environnementales, par une adaptation du régime alimentaire, sont mises en place pour induire l'athérosclérose chez ces primates.

Les examens de l'étude sont répartis sur quatre séances :

- à T0
- à T1 = T0 + 2 mois
- à T2 = T0 + 8 mois
- à T3 = T0 + 13 mois

I) MATERIEL ET METHODES

A. Les singes

Le groupe de singe utilisé pour l'étude est constitué uniquement de l'espèce Macaca fascicularis (fig 15). Aussi appelé Cynomolgus ou mangeur de crabe, ce singe est un primate de la famille des Cercopithecidae. Il peut peser naturellement entre 2,5 et 6kg pour les femelles et 4,5 à 8,5kg pour les mâles. Son espérance de vie est d'une trentaine d'années en captivité.

Figure 15 : Macaca fascicularis femelle (photo ©Cynbiose)

Treize animaux ont été étudiés, trois mâles et dix femelles. Deux singes proviennent des Philippines et les onze autres de l'ile Maurice. Ils ont entre six et dix-neuf ans. Pour les besoins de l'étude, un numéro leur est attribué : de 100 à 112 (Détail des caractéristique de chaque singe en annexe 1). Au commencement de l'étude, deux groupes on été créés pour tester deux aliments différents :

- le groupe 1 de 100 à 106 : 100 et 101 sont des mâles, tandis que 102 à 106 sont des femelles, nourrit avec un aliment à 0,5% de cholestérol.

- Le groupe 2 de 107 à 112 : 107 est un mâle, 108 à 112 sont des femelles, nourrit avec un aliment à 1,25% de cholestérol.

Les sujets sont logés dans des volières. Les groupes sont séparés et les femelles sont également séparées des mâles. Les individus se répartissent dans quatre volières (annexe2).

B. L'alimentation

Avant l'étude, les singes étaient nourris avec une alimentation physiologique.

Au début de l'étude, les singes du groupe 2 sont nourris avec un aliment plus riche en cholestérol que le groupe 1 (respectivement 1,25% et 0,5%). Cependant, après le premier mois d'étude, tous les animaux sont nourris avec l'aliment à 0,5% de cholestérol pour des raisons techniques.

Cet aliment est très riche en matière grasse et en cholestérol. 45% de l'énergie métabolisable de cet aliment est présent sous forme de graisse et il contient 5 mg/kg de cholestérol (annexe 3). Ces doses sont théoriquement suffisantes pour que les sujets développent des lésions d'athérosclérose (Nutrition, 2003).

La nourriture est distribuée une fois par jour durant toute la durée de l'étude. La quantité proposée par singe est la suivante :

- 100 g pour un singe de moins de 5 kg.
- 200 g pour un singe de 5 kg à 10 kg.
- 300 g par singe pour un singe de 10 à 15kg.

Durant l'étude, les singes ont été pesés régulièrement.

En complément de cet aliment, les singes reçoivent chacun quotidiennement une pomme ou une carotte.

C. Le dosage des paramètres biochimiques

Les dosages se répartissent selon le schéma expérimental suivant (tab V):

Tableau V : Répartition des dosages

	T0	T1 (2mois)	T2 (8mois)	T3 (13mois)
Cholestérol	✓	✓	✓	✓
Lipoprotéines	✓	✓	✓	✓
Triglycérides	✓		✓	
Glycémie		✓		✓
Bilan biochimique				✓

Les prises de sang sont réalisées au niveau de l'artère fémorale. Le sang est récupéré dans un tube EDTA puis le sérum est séparé pour être analysé ou congelé selon les analyses.

Etant donné le faible nombre de sujets, les valeurs de référence sont celles observées en T0.

Le dosage du cholestérol est réalisé avec la technique **Cholestérol RTU®**. Ce principe est fondé sur la mesure de la concentration du quinonéimine qui est produit par une cascade de réaction partir du cholestérol.

Les lipoprotéines sont dosées par un **Lipoprint System®** : Elles sont colorées puis migrent par électrophorèse sur un gel polyacrilamide. Leur migration dépend de leur poids, ainsi chaque lipoprotéine forme une bande sur le gel dont l'intensité permet de calculer la valeur.

D. **Imagerie**

Un examen échographique est réalisé à 13 mois. Le matériel utilisé pour l'examen est un échographe **Philips CX50** avec une **sonde micro-convexe C8-5 (5 à 8 MHz).**

Tous les singes de l'étude sont échographiés au cours de la même séance par le même opérateur. Pour cela, ils sont anesthésiés. L'induction est réalisée avec de la Kétamine (10 mg/kg intramusculaire) et du Midazolam (1 mg/kg intramusculaire). Une fois endormi, ils sont intubés et l'entretien de l'anesthésie est assuré par de l'Isoflurane.

Le sujet est disposé en décubitus dorsal sur une table. Le protocole échographique réalisé est le suivant :

- L'examen débute par l'aorte abdominale jusqu'à la bifurcation. Les parois de l'aorte abdominale sont mesurées.

- Les parois des deux artères iliaques sont également observées. En cas de lésions visible, la vitesse du flux est mesurée au Doppler pour vérifier que la lésion n'est pas sténosante.

- La région carotidienne est échographiée en dernier. L'épaisseur des parois des carotides droite et gauche sont mesurées. Les bulbes carotidiens sont examinés.

E. **Histologie**

Suite à l'euthanasie du singe 101 à 13 mois pour décompensation d'une insuffisance rénale, les artères carotides droites et gauches, les veines jugulaires droites et gauches, le tronc brachio-céphalique, les artères iliaques, l'extrémité de l'aorte abdominale ainsi que la bifurcation iliaque et l'aorte thoracique sont prélevées et analysés histologiquement.

Les échantillons sont déshydratés à l'alcool, inclus dans la paraffine puis des coupes de 5µm sont réalisées au microtome. Elles sont ensuite colorées à l'Hématoxyline/Eosine/Safran (HES), montées entre lame et lamelle et observées au microscope photonique (Leica DMLB). Le microscope est relié à une caméra digitale ce qui permet de réaliser des clichés photographiques.

F. **Analyses statistiques**

Le logiciel R a été utilisé pour analyser les données et les représentations graphiques des valeurs des résultats biochimiques du cholestérol, du LDL, du HDL et des triglycérides.

Un test de Student de comparaison de moyenne sur données appariées est réalisé pour les quatre analyses dans le but de montrer une différence entre les moyennes de chaque temps pour les quatre éléments biologiques dosés. Il est utilisé de façon unilatérale ici car on

souhaite montrer une augmentation du cholestérol, du HDL et du LDL ; et une diminution du HDL. L'hypothèse de normalité de la distribution des données est vérifiée par un test de Shapiro, ainsi que l'hypothèse d'homoscédasticité à l'aide du test de Fisher. Néanmoins, ce type d'analyse ne permet pas la prise en compte du temps.

En raison de la faible taille de l'échantillon étudiée et dans le but de comparer les différents individus constituant l'échantillon, un modèle linéaire mixte est réalisé en intégrant des covariables tels que le sexe et le groupe. Le modèle mixte permet également en considérant tous les individus et leurs mesures d'augmenter la puissance statistique.

Le test de Pearson est utilisé pour tester les corrélations entre les variables biologiques (Cholestérol, ldl, hdl et triglycérides) et le poids.

La significativité a été établie pour une valeur de p inférieur à $\alpha=0,05$.

La confiance à accorder aux résultats doit être modérée en raison de la faiblesse de l'effectif.

II) RESULTATS

A. Résultats biochimiques

1. *Le cholestérol*

Le dosage du cholestérol sur les treize mois de l'étude révèle globalement dans un premier temps une augmentation, puis une diminution qui n'est pas mis en évidence au même moment et dans les mêmes proportions selon les individus (fig 16).

a Evolution dans le temps

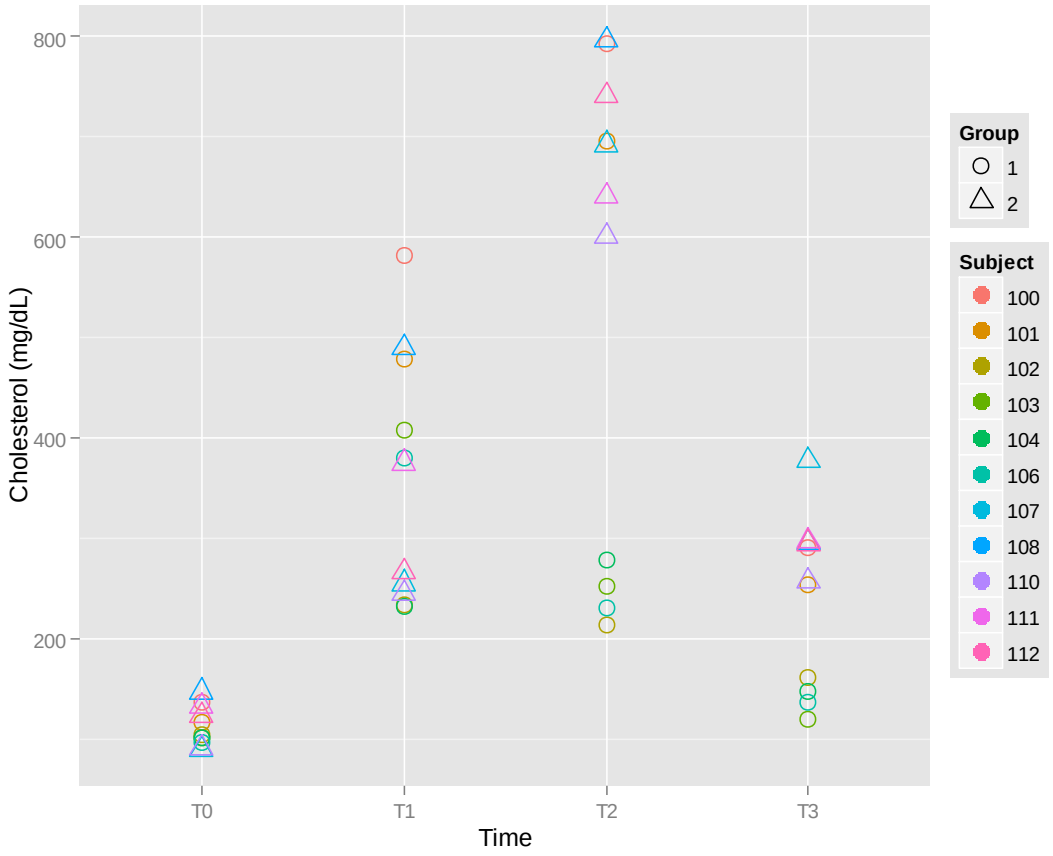


Figure 16 : Evolution du cholestérol plasmatique pour chaque individu

Toutes les valeurs du cholestérol plasmatique à T0 sont comprises entre 80 et 140mg/dl. Ces valeurs son regroupées de façon homogène à T0.

On observe une augmentation du cholestérol (fig 17) de tous les individus entre T0 et T1 (2mois). L'augmentation n'est pas homogène entre tous les groupes.

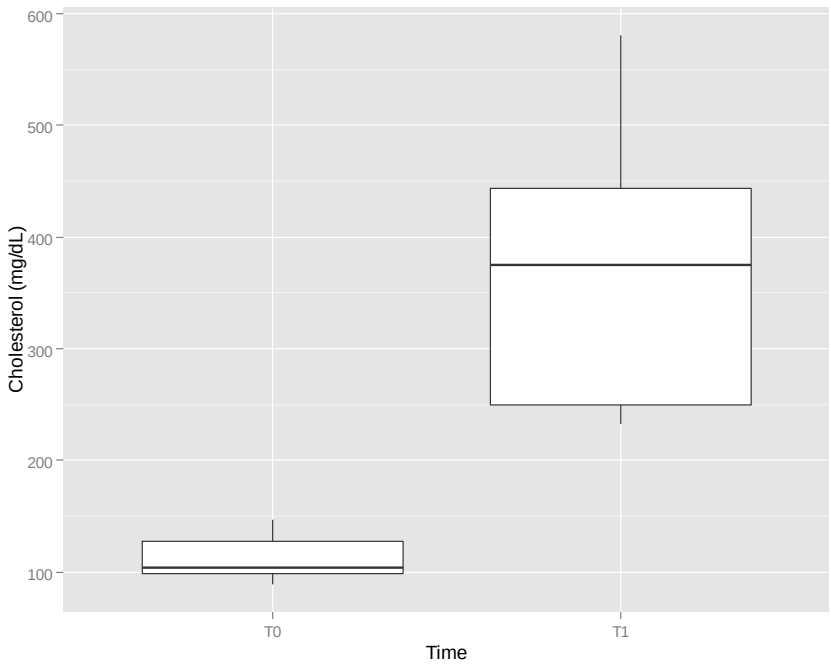


Figure 17 : Comparaison du cholestérol plasmatique entre T0 et T1

Les variations entre T1 (2mois) et T2 (8mois) sont moins régulières, par contre, les valeurs de tous les animaux en T2 sont supérieures à T0 (fig 18).

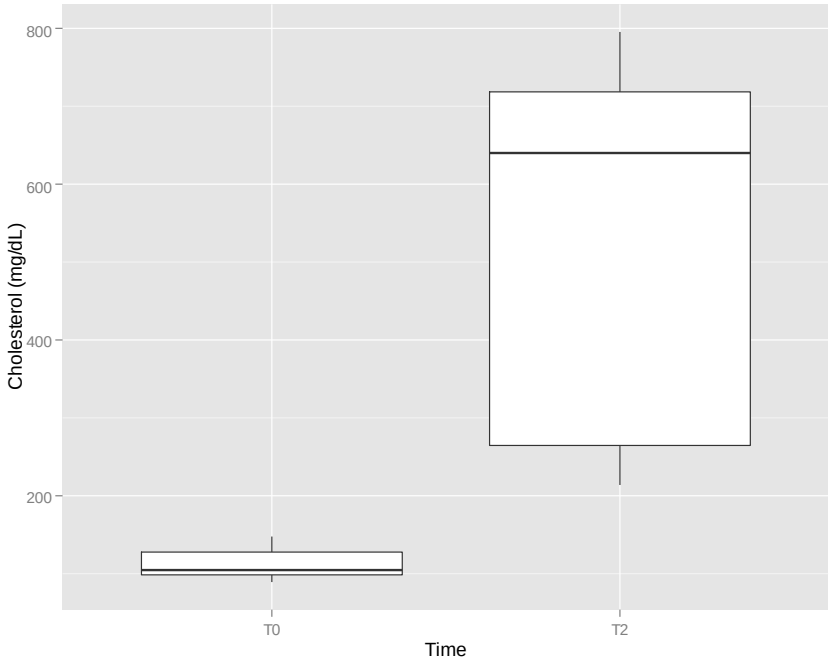


Figure 18 : Comparaison du cholestérol plasmatique entre T0 et T2

Les valeurs à T3 (13 mois) sont toutes revenues entre 100 mg/dl et 400 mg/dl avec une diminution de tous les individus (fig 16). Cependant, ces valeurs restent supérieures aux valeurs en T0 (fig 19).

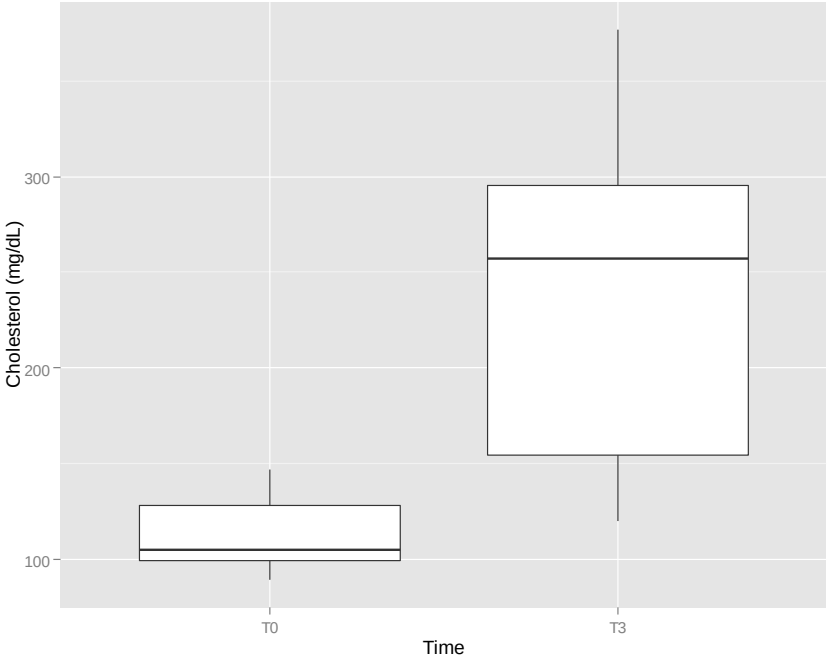


Figure 19 : Comparaison du cholestérol plasmatique entre T0 et T3

b Evolution selon les groupes et les sexes

Le modèle mixte révèle une différence à la limite de la significativité entre les deux groupes de l'expérience (p = 0,0530).

A T2 (8mois), deux populations peuvent être distinguées (fig 20) :

- Un groupe de quatre animaux (regroupant les singes numéro 102, 103, 104 et 106), dont les valeurs du cholestérol plasmatique varient entre 200 et 300 mg/dl. Il s'agit des 4 femelles restantes du groupe 1
- Un groupe de 7 animaux restant dont les valeurs se situeront entre 600 et 800 mg/dl.

De même en T3 (13mois), on note une différence entre ces deux groupes. Le premier ayant encore des valeurs inférieures à celles du deuxième.

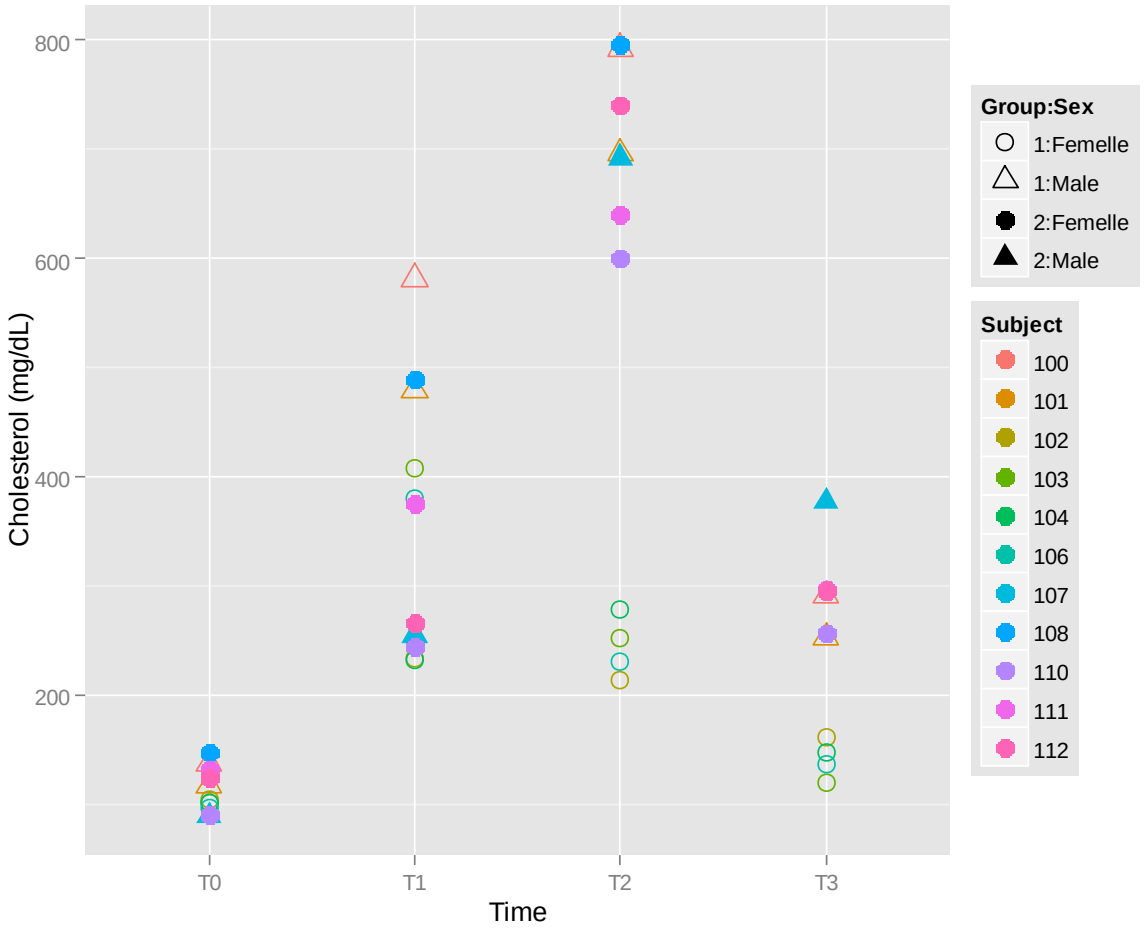


Figure 20 : Comparaison des différents groupes en T2 et T3

En comparant les femelles des deux groupes sur toute la durée de l'étude, on s'aperçoit que celles du groupe 1 ont des valeurs inférieures à celles du groupe 2 aux temps T0, T2 (8mois) et T3 (13mois) (fig 21).

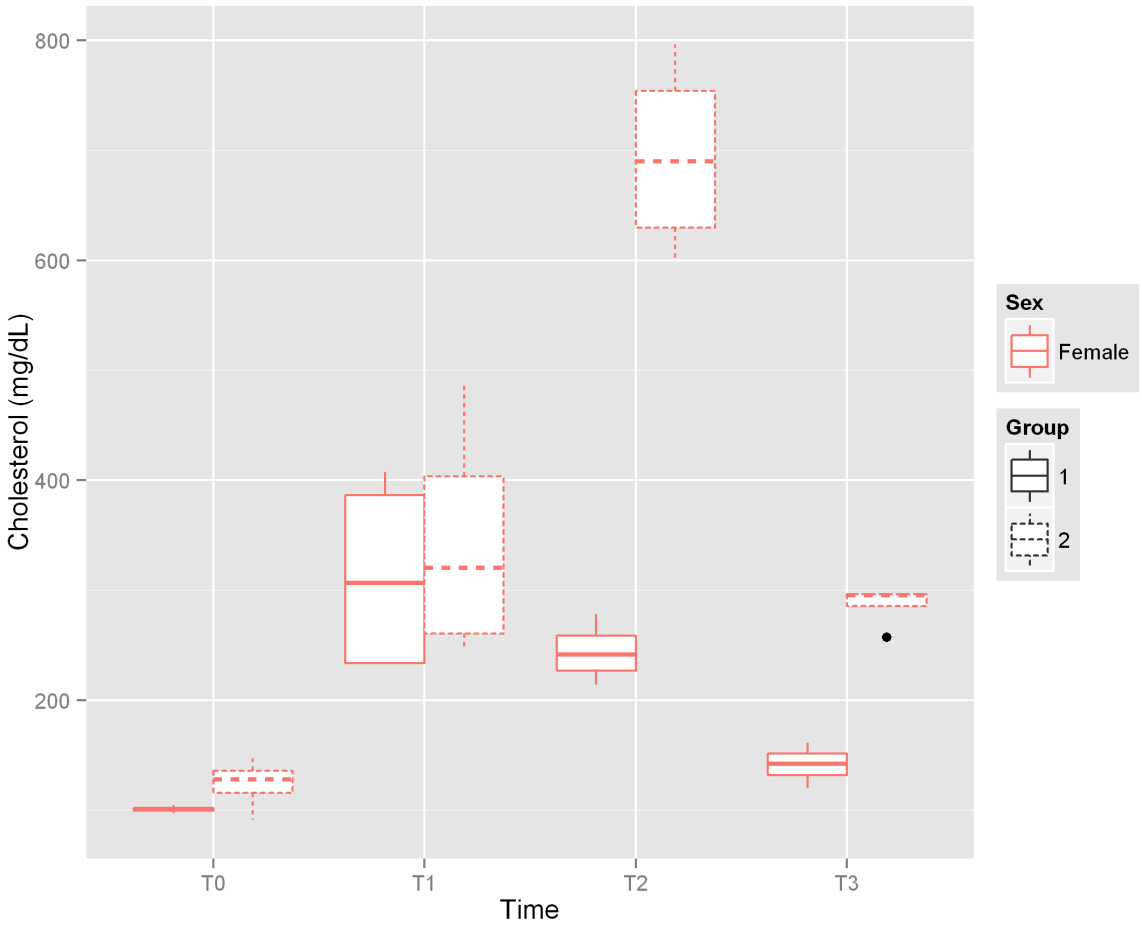


Figure 21 : Comparaison des femelles des 2 groupes

On observe donc :

- une augmentation globale du cholestérol, toujours supérieur aux valeurs en T0 ;
- des variations non homogènes des individus dans le temps et entre les groupes ;
- une augmentation moins importante du cholestérol des femelles du groupe 1 par rapport à tous les autres singes de l'étude.

2. *Les lipoprotéines*

a Le ldl

L'évolution du LDL est très proche de celle du cholestérol (fig 22).

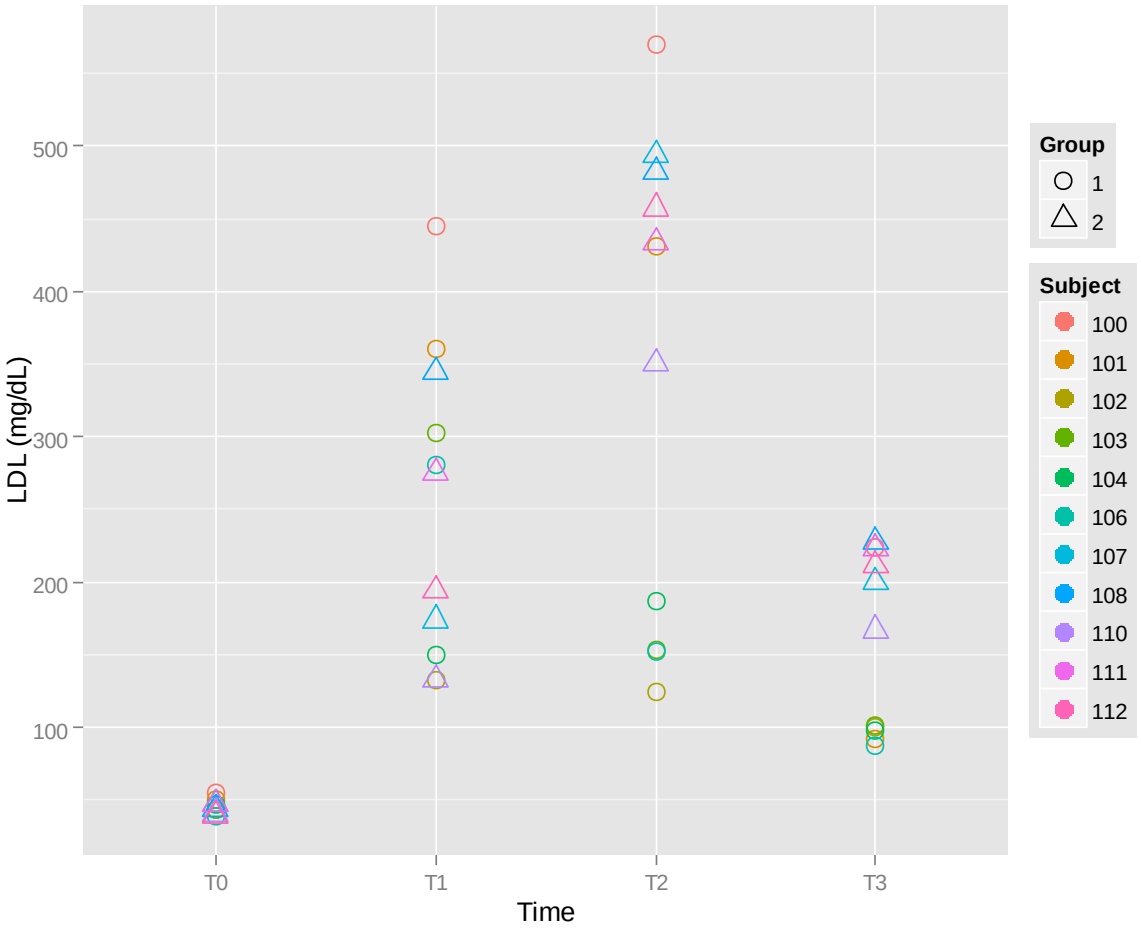


Figure 22 : Evolution du LDL totale

On retrouve les mêmes tendances que pour le cholestérol plasmatique :

- Les valeurs en T0 sont regroupées de façon homogène

- Les valeurs en T1 (2 mois), T2 (8 mois) et T3 (13 mois) semblent supérieurs à T0, néanmoins le test de Student n'est pas applicable ici en raison de l'hétéroscedasticité des données (fig 23).

- On retrouve une différence entre les groupes 1 et 2 (p-value =0,0849) non significatif ici probablement en raison du faible effectif

- De nouveau, les femelles du groupe 1 ont des valeurs plus basses que les autres membres de l'étude en T2 et T3 ($p < 0,05$, fig 24). Un effet du sexe est observable dans le modèle mixte avec une p-value associée au sexe de 0,0457.

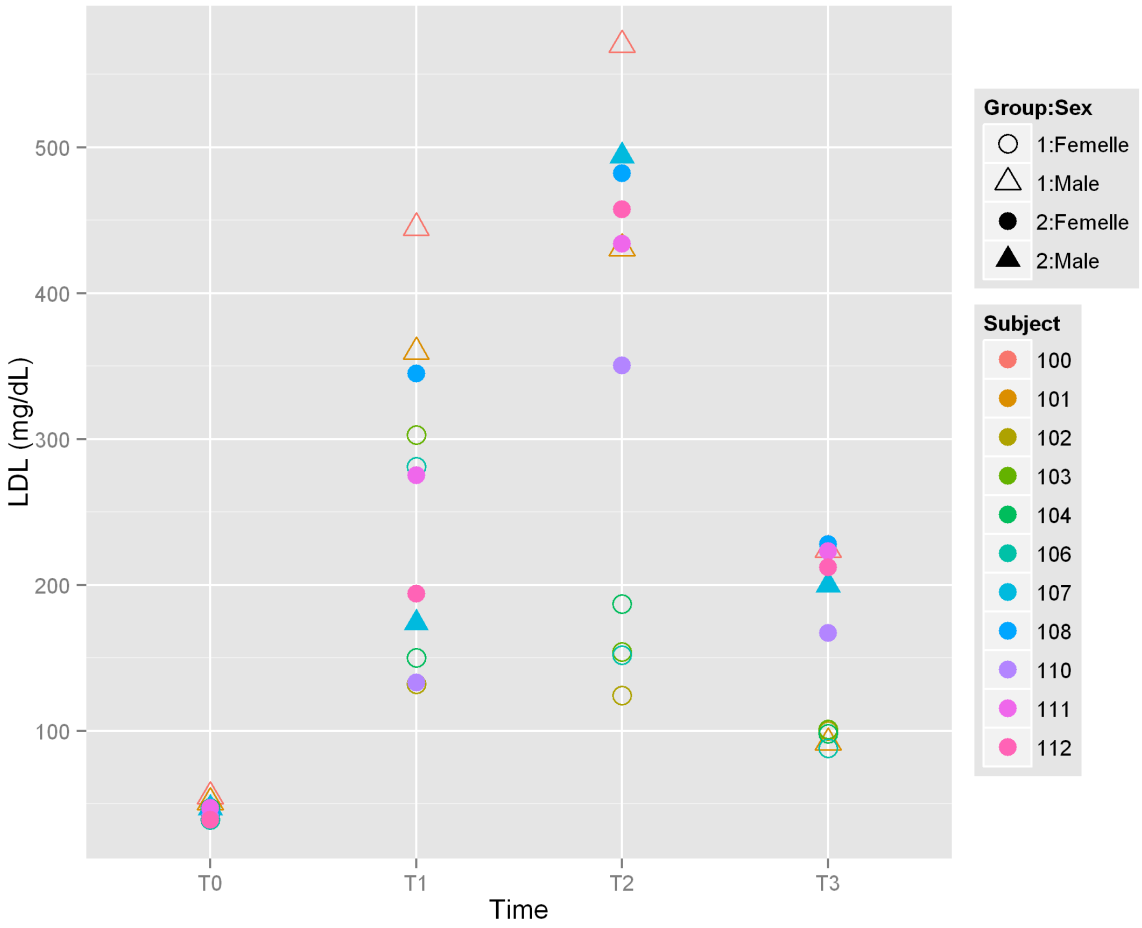


Figure 23 : Mise en évidence des différences du LDL entre les 2 groupes

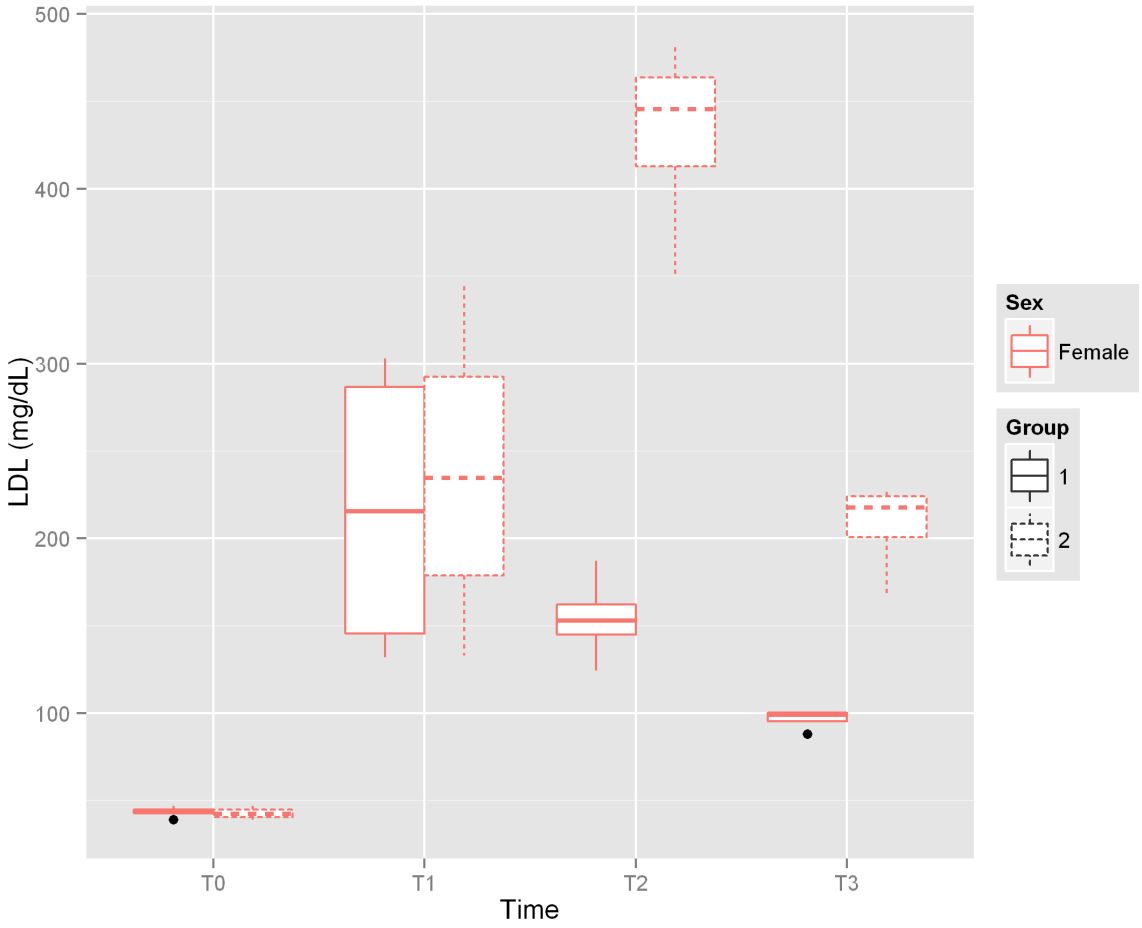


Figure 24 : Mise en évidence des différences de LDL entre les femelles de deux groupes

b Le HDL

Concernant le HDL, les variations sont beaucoup plus difficiles à voir sur le graphique d'évolution des concentrations plasmatiques (fig 25).

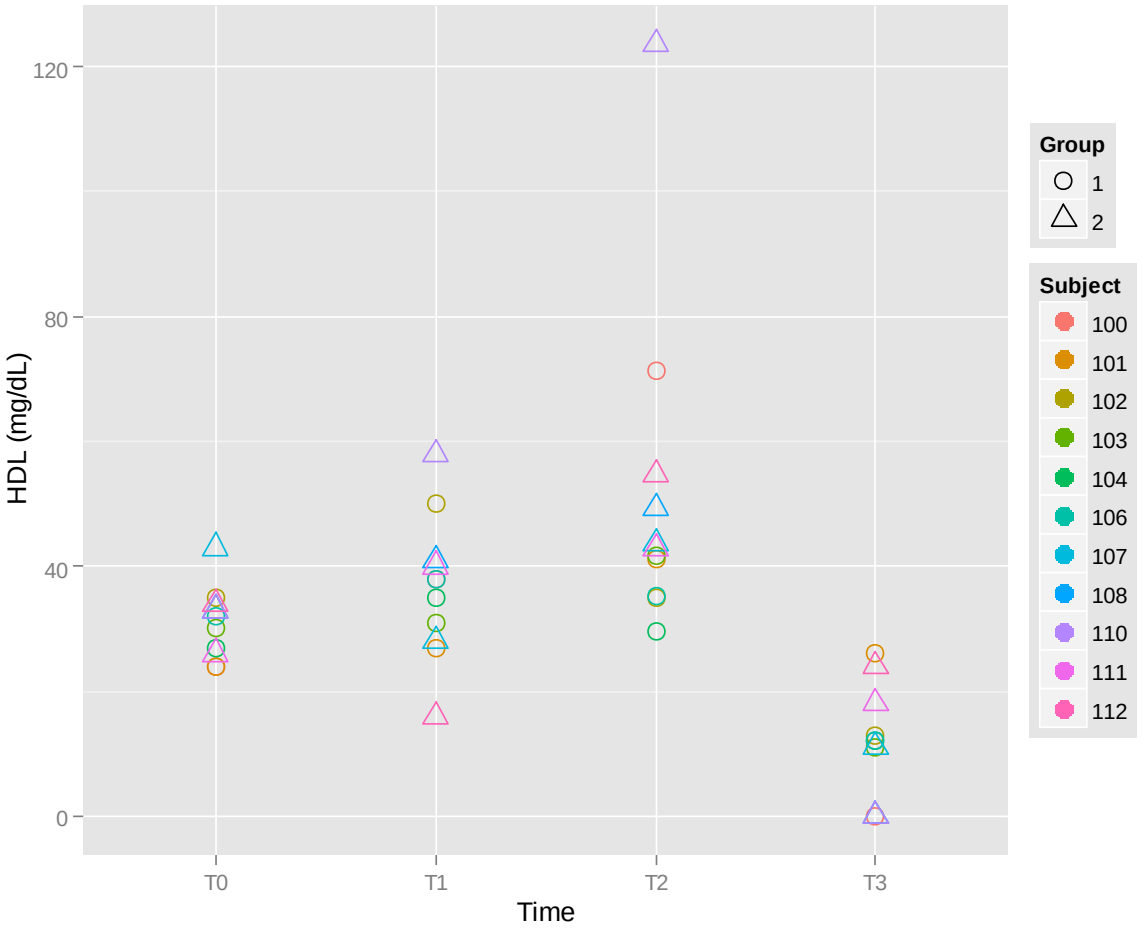


Figure 25 : Evolution des concentrations de HDL

Les seules différences significatives que l'on peut noter apparaissent en T3 (13mois). Les valeurs en T3 sont significativement inférieures aux valeurs en T0 (p-value < 0,05, fig 26), on a donc une diminution du HDL plasmatique entre T0 et T3.

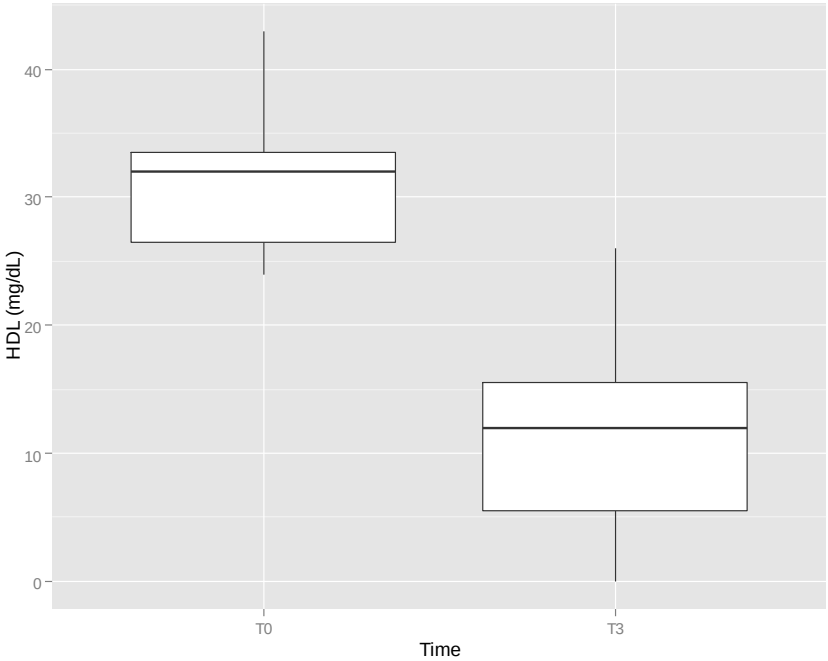


Figure 26 : Comparaison des valeurs du HDL entre T0 et T3

c Rapport LDL et HDL

Comme nous l'avons vu précédemment, afin d'observer si des variations peuvent être mises en évidence, l'analyse des proportions relatives des différentes lipoprotéines est plus intéressante que la comparaison des valeurs absolues de celles-ci (fig 27):

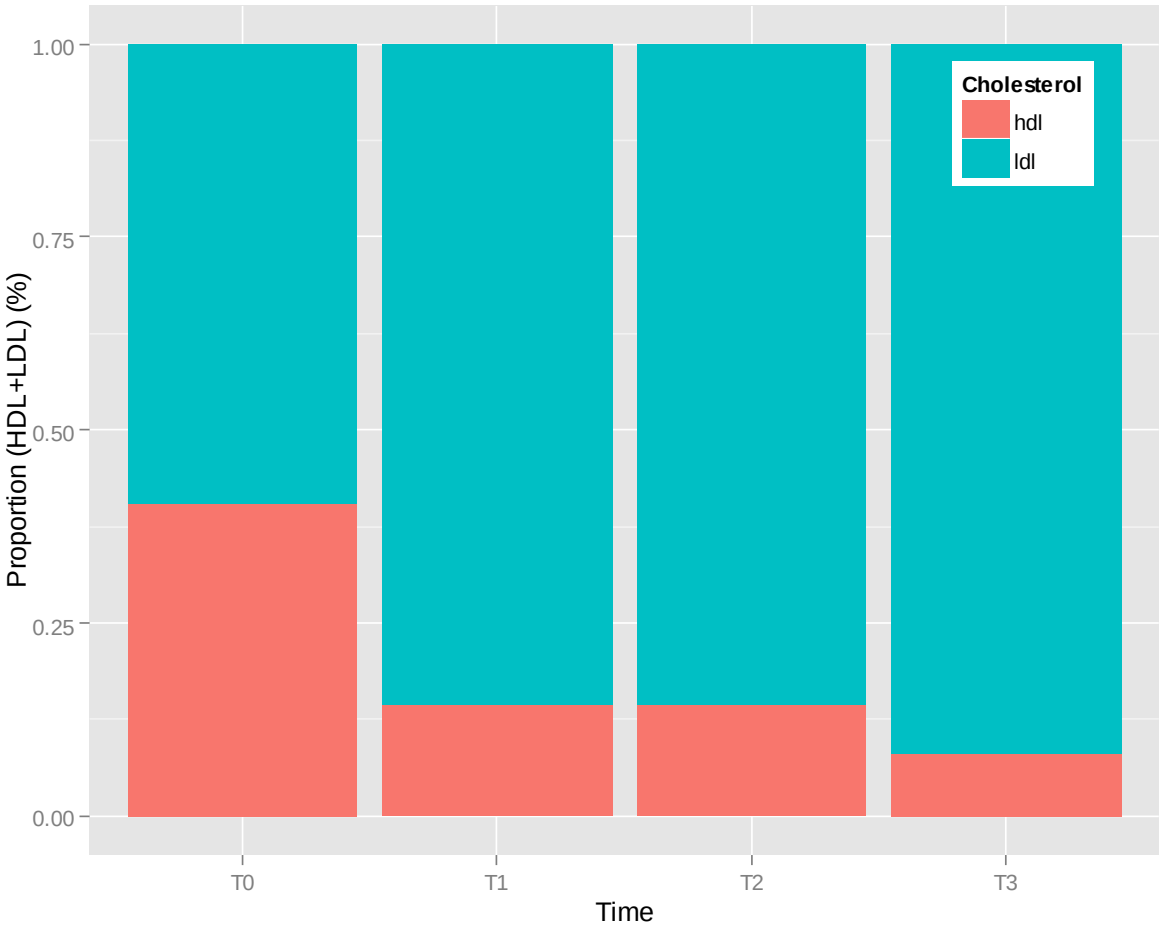


Figure 27: Evolution des proportions des lipoprotéines

Les proportions du LDL et du HDL montrent clairement une augmentation du LDL proportionnellement au HDL. L'évolution est progressive au fur et à mesure des quatre dosages.

L'évolution est la plus importante entre T0 et T1, ensuite elle se stabilise entre les autres valeurs.

Même si l'on avait observé une diminution des LDL en T3, on remarque que la proportion est encore nettement en faveur des LDL, plus encore que pour les dosages en T1 et T2.

Le dosage des lipoprotéines permet donc de montrer que l'augmentation du cholestérol est accompagnée d'une augmentation en valeur absolue et en proportion des LDL ainsi que d'une diminution de la proportion des HDL.

3. *Les triglycérides*

Les résultats des dosages des triglycérides sont indiqués dans le graphique ci-dessous (fig 28) :

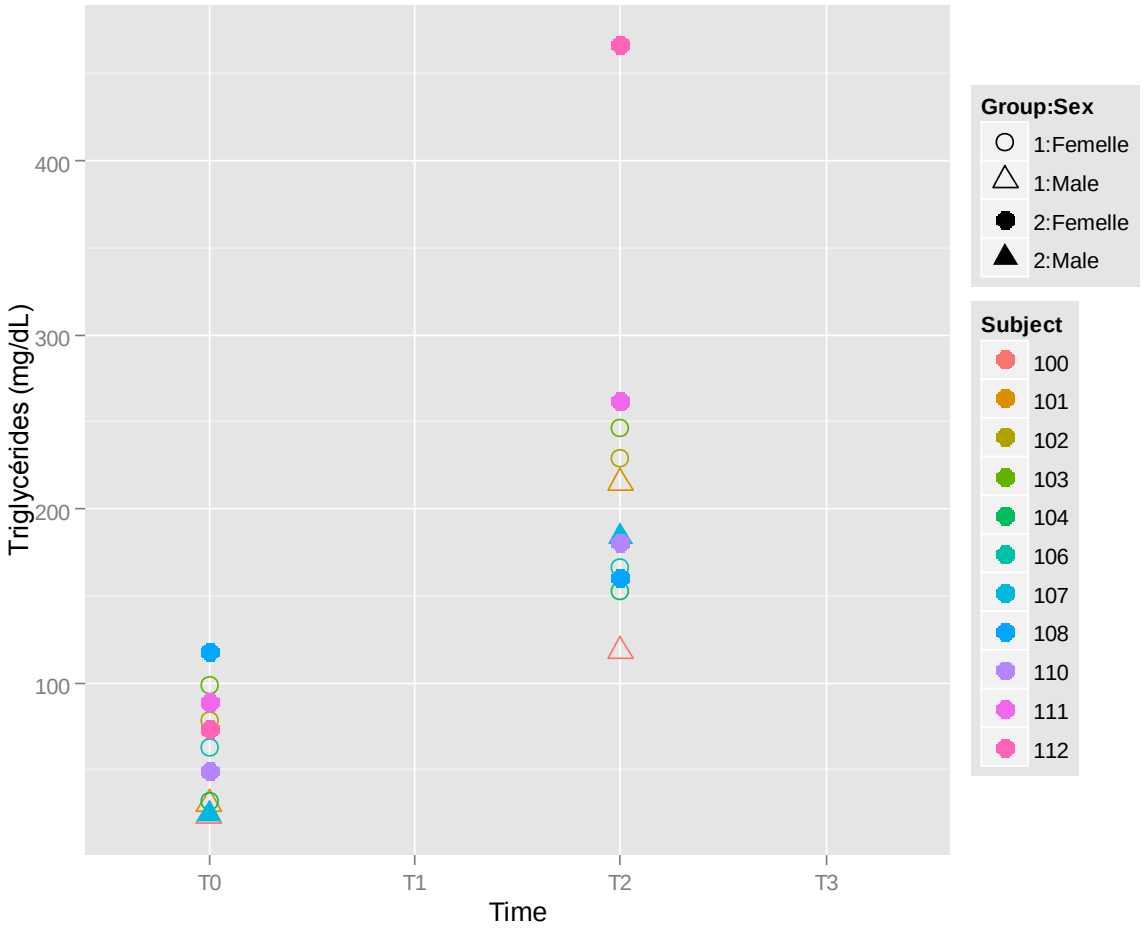


Figure 28: Valeurs de la triglycéridémie en T0 et T2

On observe que les valeurs en T0 sont plus regroupées qu'en T2 (8 mois). Les valeurs en T2 semblent aussi plus élevées qu'en T0 (fig 29).

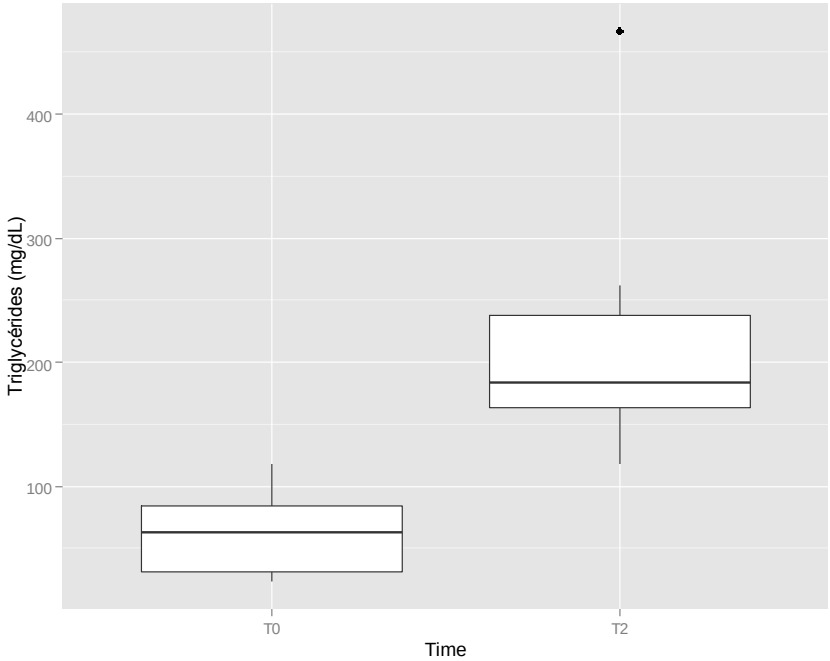


Figure 29 : Comparaison des valeurs du triglycéride en T0 et T2

4. *Corrélations avec le poids*

Les analyses précédentes ont été comparées à l'évolution du poids. Concernant les triglycérides et le HDL, on ne peut pas mettre en évidence de corrélation. Par contre, il existe une corrélation significative de respectivement 0,3855954 et 0,3948142 entre la prise de poids et l'augmentation du cholestérol ($p < 0,05$) et l'augmentation du LDL ($p < 0,05$).

5. *Bilan biochimique des animaux en T3*

Les résultats du bilan biochimique réalisé à 13 mois sont indiqués ci-dessous (tab IV):

Tableau VI: Résultats des bilans biochimiques à 13 mois

	ALT	AST	CREA	GGT	GLU	PAL	UREE
	U/L	*U/L*	*µmol/L*	*U/L*	*mmol/L*	*U/L*	*mmol/L*
100	53	51	80	22	3,1	209	4,5
101	17	36	366	33	5,1	254	44,1
102	48	93	105	115	3,4	204	6,0
103	20	35	85	88	3,4	174	4,2
104	52	52	64	71	2,8	237	6,3
106	57	36	65	81	3,0	172	5,9
107	77	79	119	113	3,0	155	6,7
108	47	70	81	61	2,0	215	4,7
110	113	55	65	87	2,7	233	5,7
111	56	61	93	142	3,2	248	4,7
112	195	84	88	104	2,7	305	5,5

ALT = Alanine Aminotransférase ; AST = Aspartate Amino Transférase ; CREA = Créatinine ; GGT = gamma-glutamyl transférase ; GLU = Glucose ; PAL = Phosphatase Alcaline ;

Les valeurs supérieures aux normes sont indiquées en rouge, alors que les valeurs inférieures sont indiquées en bleu d'après (Rick Lee D. and CJ.)

On remarque que les singes 107, 110 et 112 ont des valeurs d'ASAT et ALAT conjointement supérieures aux normes.

On note une augmentation très importante des valeurs d'urémie (44,1mmol/L), de créatininémie (366µmol/L) et de glycémie (5,1mmol/L) chez le singe 101.

D'autres valeurs sont supérieures ou inférieures aux normes mais dans des proportions plus faibles que pour les valeurs précédemment citées.

B. **Echographie**

Les examens échographiques réalisés sur les singes ont permis de montrer que sur les onze singes échographiés, dix présentent des lésions visibles. Seul le singe 103 n'a pas de lésion visible à l'examen échographique. Au total, vingt-quatre lésions ont été visualisées.

La région carotidienne est le site sur lequel le plus de lésion ont pu être observées avec sept lésions observées sur le bulbe carotidien gauche (fig 31), cinq lésions sur le bulbe carotidien droit, quatre lésions sur l'artère carotide commune gauche (fig 30) et deux lésions sur l'artère carotide commune droite.

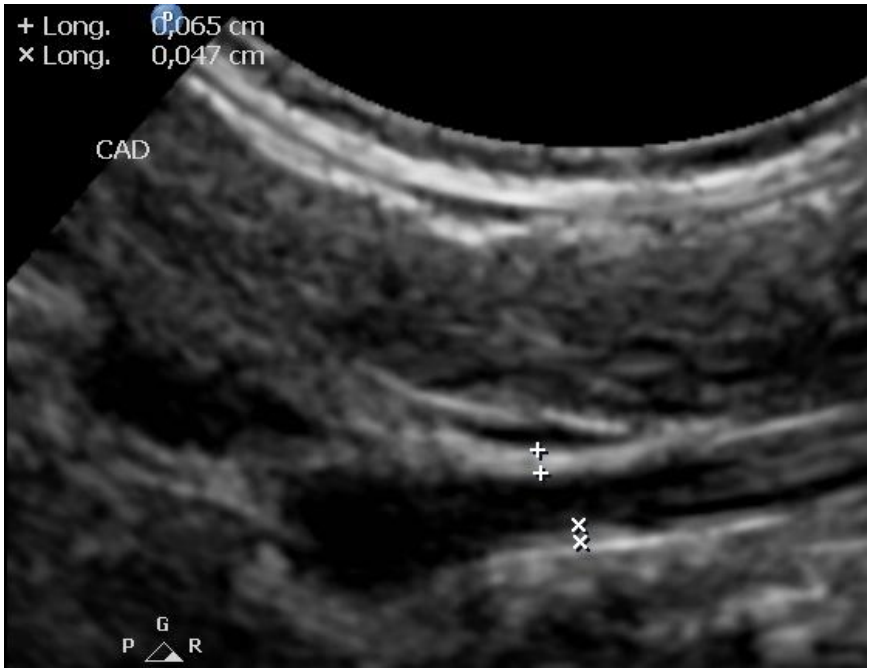


Figure 30: Visualisation de la plaque au niveau de la paroi de la carotide commune gauche du singe 101 (Image : ©Guillaume Condamin/Cynbiose)

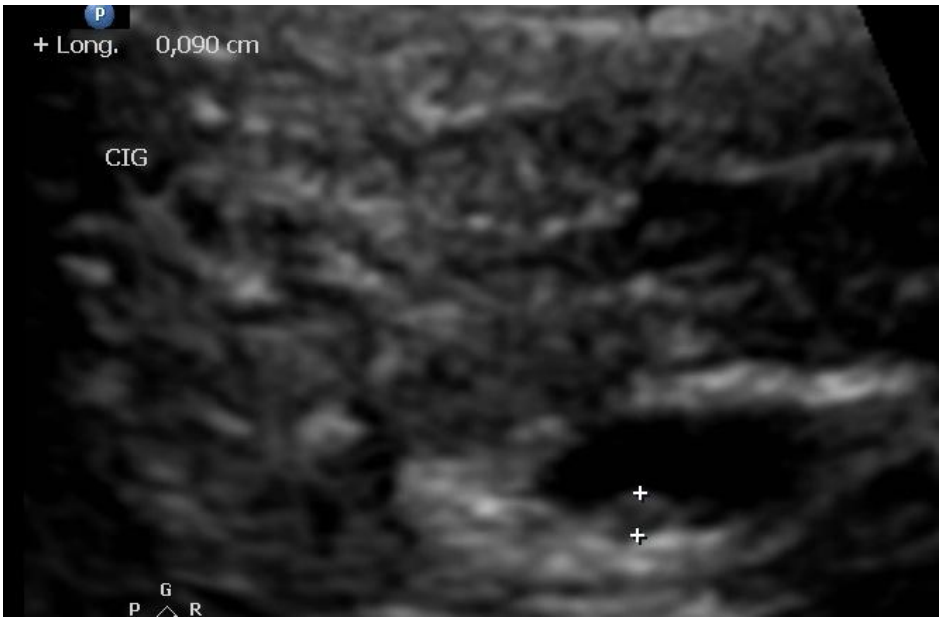


Figure 31: visualisation de la plaque au niveau de la paroi du bulbe carotidien gauche du singe 108 (Image : ©Guillaume Condamin/Cynbiose)

Le deuxième site le plus touché est la région iliaque avec six lésions sur l'artère iliaque externe gauche (fig 32).

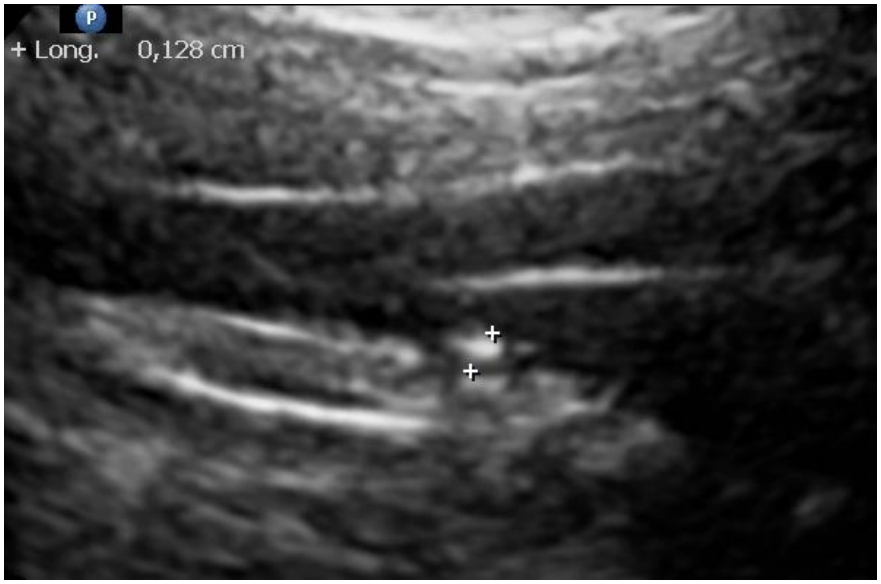


Figure 32°: visualisation de la plaque au niveau de la paroi de l'artère iliaque externe gauche du singe 100 (Image : ©Guillaume Condamin/Cynbiose)

Enfin, une lésion au niveau aortique a pu être observée. Elle siège au niveau de l'aorte distale.

Une synthèse de la distribution des lésions est réalisée dans le graphique ci-dessous (fig 33) :

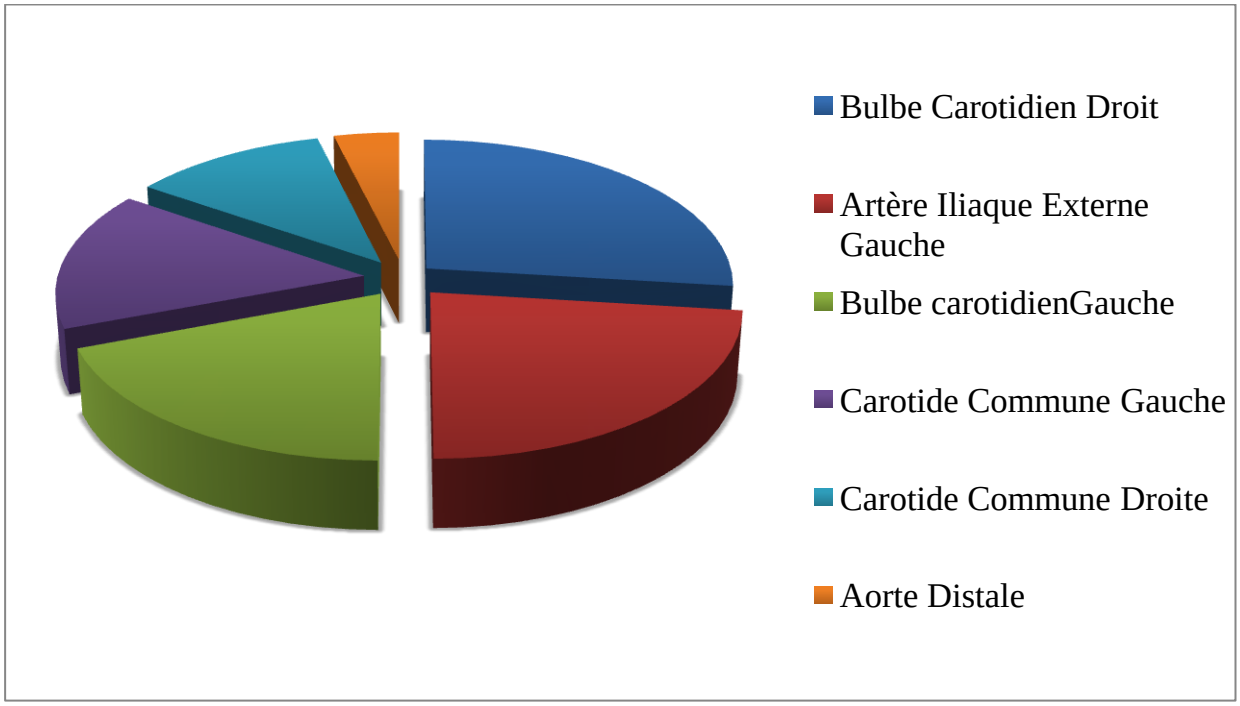


Figure 33 : Distribution des lésions visibles à l'échographie

Quatre des six lésions présentes au niveau de l'artère iliaque externe gauche sont sténosantes. Elles concernent les singes 100, 107, 108 et 111.

Les femelles du groupe 1 présentent très peu de lésions. Ces lésions sont surtout visibles au niveau carotidien. Dans ce groupe, la femelle 102 ne présente qu'une seule lésion visible au niveau iliaque.

La taille des plaques et l'échogénicité de celles-ci différent en fonction de sa localisation et de l'individu.

Le bilan global de l'examen échographique est proposé dans le tableau ci-dessous (tab VII):

Tableau VII: Récapitulatif des lésions observées à l'échographie

Sujet	Région carotidienne	Région iliaque	Aorte
100	Plaque carotide commune droite et gauche	Plaque artère iliaque externe gauche **sténosante**	
101	Plaque calcifiée carotide droite Epaississement paroi carotide gauche		
102		Plaque débutante	Plaque débutante
103	*Aucune lésion échographiquement visible*		
104	Plaques bulbe carotidien droit et gauche		
106	Plaques bulbe carotidien droit et gauche		
107	Plaque bulbe carotidien droit	Plaque artère iliaque externe gauche **sténosante**	
108	Plaque carotide commune gauche Bulbe carotidien droit et gauche	Plaque artère iliaque externe gauche **sténosante**	
110	Epaississement paroi bulbe carotidien droit		
111	Plaques bulbe carotidien gauche Paroi carotide commune gauche	Plaque artère iliaque externe gauche **sténosante**	
112	Plaque carotide commune et bulbe carotidien droit Plaque calcifiée bulbe carotidien gauche		

C. Histologie

L'euthanasie du singe 101 à 13 mois à permis de réaliser un examen histologique de plusieurs vaisseaux. Les résultats histologiques mettent en évidence :

- La présence d'une plaque athéromateuse au niveau de l'artère iliaque commune droite (fig 34) à l'origine d'un rétrécissement de la lumière du vaisseau. La limitante élastique interne présente une fragmentation, une calcification et une fibrose installée. Les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire sont remplacées par des fibroblastes. Une réaction inflammatoire lymphocytaire et des macrophages spumeux sont visibles.

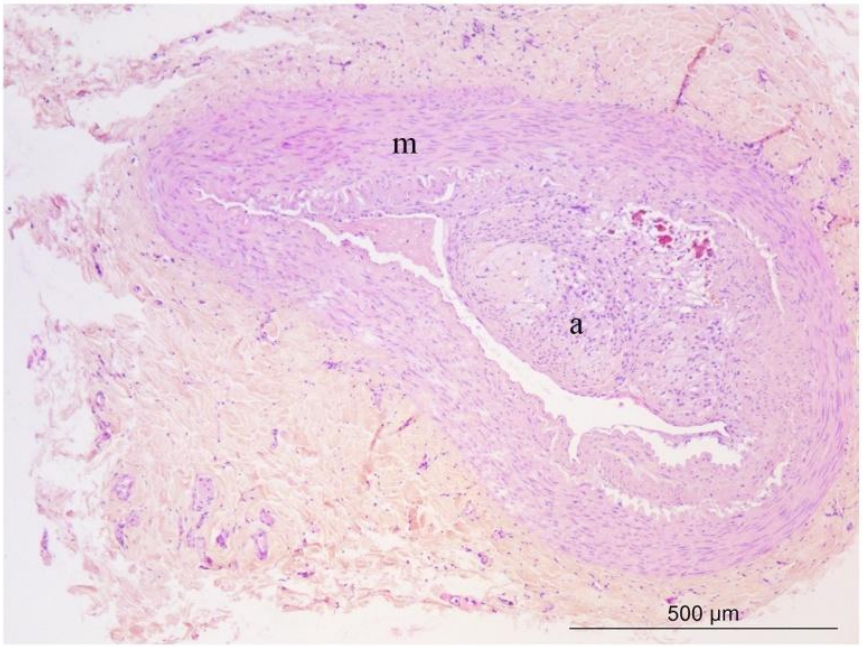


Figure 34: Coupe de l'artère iliaque commune droite au niveau de la plaque d'athérome
a = plaque d'athérome ; m = média (image : ©Novotec/Cynbiose)

Une lésion s'étend de l'extrémité caudale de l'aorte abdominale jusqu'à l'artère iliaque commune gauche en passant par la bifurcation iliaque (fig 35). A ce niveau, une plaque athéromateuse circonférentielle est visible. Elle provoque un rétrécissement important de la lumière vasculaire. Les lésions sont caractéristiques : un épaississement de la media, des cristaux de cholestérol et une calcification sont présents au sein de la plaque ainsi que de nombreux macrophages (fig 36).

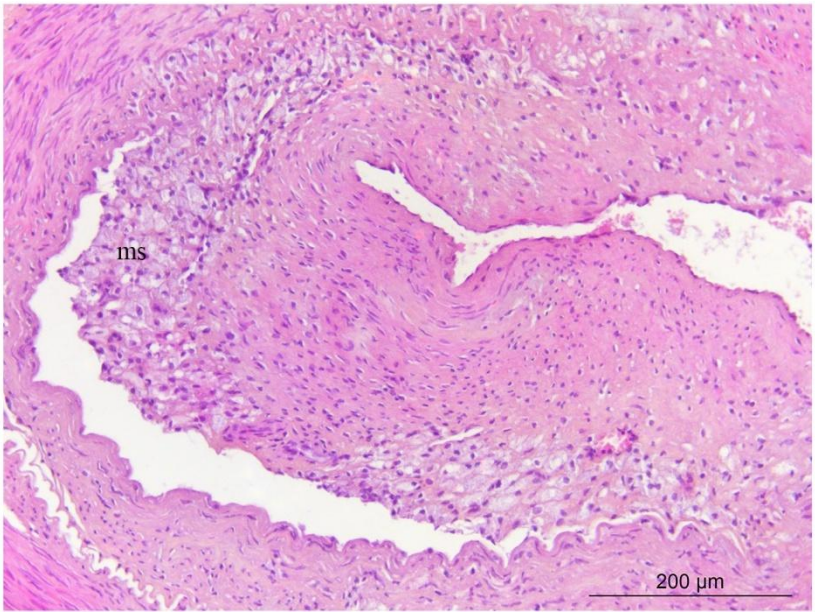


Figure 35 : Nombreux macrophages spumeux présent sur une coupe de l'artère iliaque commune gauche
ms = macrophages spumeux (image : ©Novotec/Cynbiose)

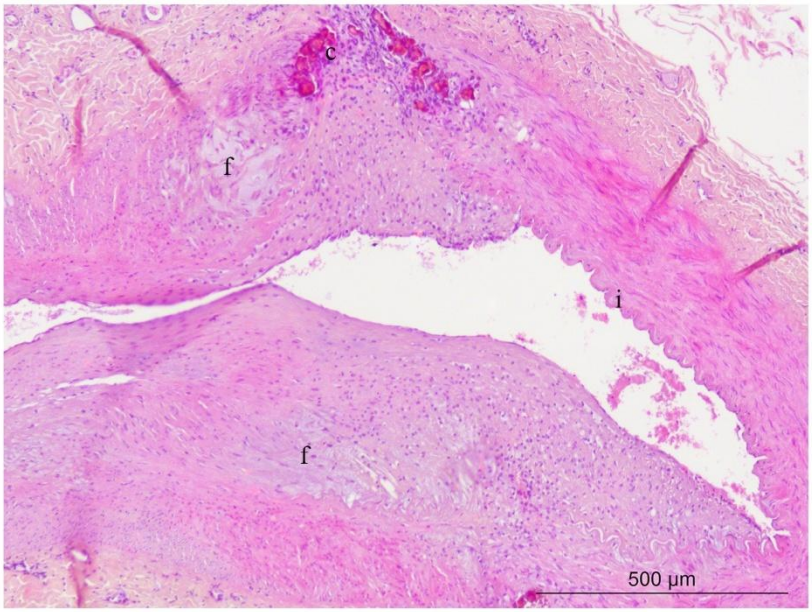


Figure 36 : Mise en évidence de la cacification et de la fibrose d'une plaque sur une coupe de l'artère iliaque commune gauche
f = fibrose ; c = calcification ; i = intima (image : ©Novotec/Cynbiose)

- Au niveau de l'aorte thoracique, on distingue une lésion athéromateuse précoce. Des macrophages spumeux isolés ou en amas ainsi que des dépôts fibreux sont présents au niveau de la sous-couche endothéliale de l'intima (fig 37).

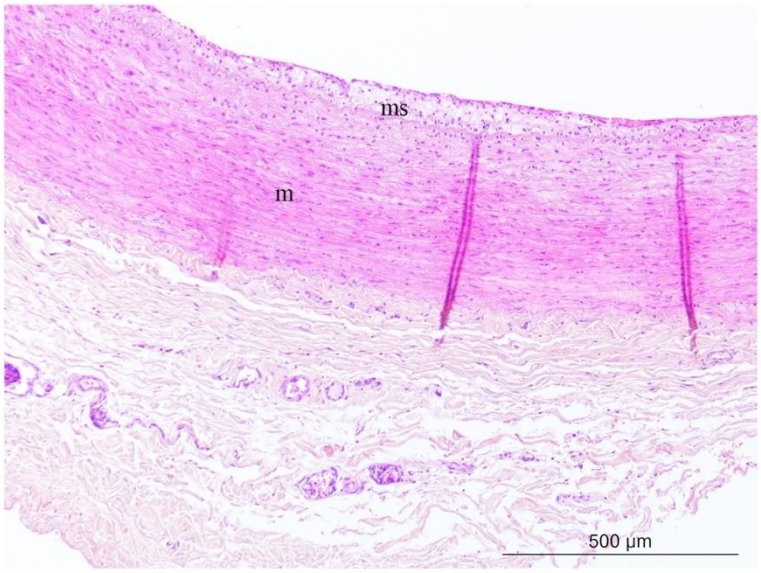


Figure 37: Nombreux macrophages spumeux présent dans la sous couche endothéliale de l'intima de l'aorte thoracique
m = media ; ms = macrophages spumeux (image : ©Novotec/Cynbiose)

Concernant les autres vaisseaux de l'organisme, le tronc brachio-céphalique, l'artère carotide droite et la veine jugulaire droite présentent des lésions à des stades moins avancées. Ces lésions correspondent à des stades très précoces.

Aucune autre lésion n'a été observée sur les artères restantes.

III) DISCUSSION

Les résultats concernant le dosage du cholestérol, le profil lipoprotéinémique ainsi que les images échographiques et les résultats histologiques sont tous en faveur d'un développement de lésions d'athérosclérose chez les sujets.

Choix des groupes

Le choix de prendre T0 comme point de référence plutôt que de réaliser un groupe témoin peut être critiquable. Cependant, les valeurs des sujets en T0 coïncident avec ce que l'on peut trouver dans la bibliographie sur des singes physiologiquement stables. Malgré la

disparité des âges et des sexes, il peut paraitre légitime de penser que si l'on avait conservé les mêmes conditions que celles présentes avant l'étude, les différentes valeurs seraient restées dans des proportions similaires. Le coût d'une telle étude et les contraintes techniques engendrées par la présence de nombreux singes sont également des raisons qui nous ont conduits à ne pas utiliser de groupe témoin. Le choix des temps de dosage proposé résulte également de contraintes techniques et financières.

Profil lipidique

A tous les temps (2, 8 et 13 mois), les taux de cholestérol plasmatique ont augmentés ainsi que les taux sériques de LDL. Ces données sont en faveur d'une augmentation du risque de développer de l'athérosclérose.

Les proportions des différentes catégories de lipoprotéines étayent cette hypothèse puisque le pourcentage de LDL augmente au détriment des HDL.

Bien que le dosage des triglycérides n'ait été fait qu'à 2 mois, ceux-ci sont augmentés.

L'ensemble de ces résultats est donc nettement en faveur d'un développement de l'athérosclérose chez les singes ce qui sera confirmé par l'analyse histologique des vaisseaux du singe 101.

Pour tous les sujets le cholestérol et les LDL baissent à 13 mois. Ce phénomène nous a surpris étant donné qu'aucun élément environnemental n'a changé entre le huitième et le treizième mois de l'étude.

Différentes explications peuvent être avancées. Un problème lié à la technique d'analyse des échantillons ne peut être exclu. Cette hypothèse est étayée par le fait que certains sujets ont une valeur nulle de HDL à 13 mois (c'est le cas des singes 108 et 110). Cette mesure semble biologiquement impossible. Par ailleurs, les sujets reçoivent, en plus de leur alimentation riche en cholestérol, un fruit ou un légume par jour. Nous savons que l'ingestion de fibres protège l'organisme contre un développement rapide de l'athérosclérose, même s'il est difficile d'expliquer pourquoi cet effet apparait à partir de 13 mois et pas avant alors que les animaux ont reçu des fruits dès le début de l'étude.

Concernant les dosages de cholestérol et de LDL, nous avons pu mettre en évidence qu'un groupe se distinguait en présentant des augmentations plus faibles que les autres animaux. Or tous ces sujets sont dans la même volière et tous les sujets de cette volière sont concernés. Nous savons que des paramètres de stress et de hiérarchies peuvent rentrer en compte lors du développement de l'athérosclérose.

Il est donc possible que les hiérarchies entre les sujets de cette volière jouent un rôle important. En particulier, l'athérosclérose se développe essentiellement lorsque les hiérarchies sont en permanence remises en cause.

Une hypothèse génétique peut aussi être avancée. Les singes de cette volière pourraient être issus de lignées plus résistantes à l'athérosclérose par rapport aux autres singes de l'étude. L'analyse du génotype de ces animaux peut donc constituer une piste intéressante.

Enfin, lors du premier mois de l'étude les animaux du groupe 2 n'ont pas reçu le même régime. Ils recevaient un aliment plus riche en cholestérol, ce qui accroit le risque de développer des lésions. Cela a été vérifié chez les femelles, les femelles du groupe 2 ayant développé plus de lésions que les femelles du groupe 1, mais pas chez les mâles, les mâles des deux groupes présentant des lésions similaires. Ces différences de régimes n'ayant été mises en place que sur un seul mois, l'influence de ces facteurs reste à nuancer.

Nous avons pu remarquer que les femelles du groupe 2 ont développé un conséquent tissu adipeux en région abdominale, alors que la morphologie des femelles du groupe 1 est restée stable. La corrélation entre le poids, l'augmentation du cholestérol et des LDL nous amène à penser que ce paramètre peut aussi être un facteur intéressant dans le développement de la maladie. Les seuls amaigrissements conséquents observés l'ont été lors des décompensations d'insuffisance rénale confirmées par analyses biochimiques : l'état d'embonpoint peut donc aussi être un signal d'alerte du mauvais état de santé de l'animal.

Complications rénales

Les euthanasies liées aux insuffisances rénales durant l'étude posent un véritable problème. En effet, l'une des difficultés du développement d'un modèle primate non humain d'athérosclérose est la propension de cette espèce à développer des insuffisances rénales. Ce problème parait difficile à contourner, d'autant plus que les animaux concernés sont difficiles à dépister sans la réalisation de bilans biochimiques réguliers. Les seuls traitements existants permettent uniquement de ralentir le phénomène et on ne connait pas leurs interactions avec le développement de l'athérosclérose. La seule possibilité pour garder ces animaux en vie est d'exclure les individus malades de l'étude lors de leur diagnostic pour tenter de faire régresser les lésions athéromateuses en arrêtant le régime riche en cholestérol. Une telle solution aboutit à une diminution de la taille de l'échantillon testé.

Analyses échographiques et histologiques

Les analyses échographiques réalisées à 13 mois sont tout à fait dans la continuité de ce qui a été mis en évidence lors du bilan lipidique. De nombreuses plaques ont pu être observées. Les sites carotidiens (bulbe carotidien et paroi de la carotide) sont les sites les plus fréquemment concernés par le développement de lésions. De plus, il s'agit probablement du premier site touché par l'athérosclérose, ou du moins le plus sensible, car de nombreux singes présentent des lésions au niveau carotidien sans en développer au niveau iliaque. Au contraire, seul le singe 102 (femelle du groupe 1) présente des lésions iliaques et même aortique sans présenter de lésions carotidiennes.

Aucune femelle du groupe 1 ne présente de lésion sténosante. Par ailleurs, ce sont ces animaux qui présentent les lésions les plus petites et les moins nombreuses. Le singe 103 ne présente même aucune lésion visible! Ces données coïncident encore avec ce que nous avions

pu observer lors des dosages, à savoir que ces animaux présentaient un taux de LDL inférieur au groupe 2.

L'examen échographique permet non seulement de visualiser et de mesure les lésions mais aussi les sténoses. Cependant, il s'agit d'une technique dont la sensibilité dépendra de l'opérateur, de l'appareil et de la connaissance de l'appareil par l'utilisateur. La sensibilité de ce type d'examen est donc difficilement quantifiable et certaines plaques ont pu être oubliées.

Pour des raisons techniques et financières, un seul examen échographique à pu être réalisé. Un suivi échographique sur la durée de l'étude ou, au moins, à chaque temps aurait permis d'avoir un suivi bien plus précis. Cependant, étant donné qu'une seule séance était prévue, le choix de la réaliser à 13 mois a été fait afin d'optimiser la chance d'observer des lésions.

Le singe 101 a été euthanasié à 13 mois car il présentait une décompensation d'insuffisance rénale. Les analyses histologiques réalisées sur le singe 101 montrent la présence de nombreuses lésions d'athérosclérose. Les lésions observées lors de l'examen échographique ont donc pu être caractérisées histologiquement. La bonne corrélation entre les lésions échographiques et histologiques dans le diagnostic de l'athérosclérose démontre l'intérêt de l'échographie lorsque les lésions sont avérées. Des lésions moins importantes et indécelables à l'échographie ont pu être mises en évidence au cours de l'examen histologique.

Lors de l'examen échographique, toutes les lésions répertoriées ont été confirmées à l'examen histologique. Malheureusement nous avons vu que certaines lésions ne peuvent être détectées qu'au cours de l'examen histologique mettant en exergue le manque de sensibilité de l'échographie dans la détection de l'ensemble des plaques athéromateuses. L'histologie reste donc le « gold standard ».

Il aurait pu être pertinent de réaliser des analyses histologiques sur les singes 105 et 109 décédés un peu plus tôt dans l'étude, malheureusement des contraintes financières ont empêché ces analyses.

IV) CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans cette étude, nous avons montré qu'il était possible de développer un modèle primate d'athérosclérose suite à l'administration d'un régime hyperlipidique en 13 mois seulement. En effet, toutes les analyses effectuées sont en faveur du développement de lésions d'athérosclérose. Certaines modifications semblent encore à apporter pour pouvoir favoriser le développement des lésions, comme une meilleure gestion de l'alimentation (retrait des fruits et légumes si possible) ou la mise en place de techniques diminuant l'influence de la hiérarchie chez les singes.

La bibliographie nous laissait craindre qu'une seule année sous régime enrichi en cholestérol ne soit pas suffisante pour observer des lésions. Cependant, le profil propice à

l'apparition de lésions ainsi que la visualisation par échographie ou par histologie du singe euthanasié tendent à montrer le contraire.

Le protocole d'imagerie proposé a pour principal objet de vérifier la présence de lésions de façon non invasive contrairement à l'histologie qui nécessite l'euthanasie de l'animal. Malgré son manque de sensibilité et ses limites techniques, l'échographie est une méthode complètement non invasive, abordable et spécifique. Elle est tout à fait pertinente dans le cadre de la règle des 3R en expérimentation animale.

Elle participe à la **réduction des effectifs** de singes puisqu'il n'est plus nécessaire d'euthanasier des animaux pour connaitre le stade de développement des lésions. De plus, elle permet la mise en place d'un suivi beaucoup plus régulier.

D'autres techniques d'imagerie sont en cours d'évaluation afin d'éviter d'avoir recours à l'histologie. Il s'agit du PET scan, de l'IRM ou encore de l'échographie endovasculaire. Ces techniques sont rarement utilisées en routine sur des animaux de laboratoires mais étant donné leur essor, il est possible qu'elles supplantent progressivement les autres techniques diagnostiques.

CONCLUSION

L'athérosclérose est une maladie dont l'intérêt est croissant car elle concerne une part très importante de la population. Elle représente la première cause de mortalité dans les pays industrialisés. En conséquence, les recherches effectuées sur ce sujet ne cessent de s'intensifier. Le modèle animal constitue une pierre angulaire dans l'étude de la physiopathologie de cette maladie. Les chercheurs sont toujours plus exigeants quant à la nécessité d'obtenir des modèles animaux maitrisés et proches de l'homme.

Dans notre première partie, nous nous sommes attachés à décrire les lésions de l'athérosclérose ainsi que ses mécanismes. Nous avons montré que l'athérosclérose est une maladie complexe et multifactorielle. Des facteurs alimentaires, mais aussi inflammatoires ou génétiques interviennent dans sa physiopathologie.

Nous avons ensuite passé en revue les modèles animaux déjà existants ainsi que les techniques d'induction de l'athérosclérose dans ces modèles. Les chercheurs étudient des stratégies depuis des décennies pour se rapprocher du modèle idéal qui permettrait le développement de lésions d'athérosclérose identiques à celles de l'homme. A ce jour aucune espèce étudiée ne correspond à ce modèle idéal même si les régimes riches en cholestérol, les sélections et les modifications génétiques fournissent des modèles de plus en plus pertinents.

Leur compréhension nécessite d'analyser les lésions d'athérosclérose rencontrées dans chacun d'entre eux. C'est pourquoi nous avons détaillé les méthodes les plus courantes qui permettent de détecter ces lésions d'athérosclérose. Un suivi des lipides plasmatiques, et notamment des lipoprotéines, est généralement nécessaire pour connaitre la sensibilité des sujets. L'examen histologique des lésions permet de les caractériser : il est considéré comme la méthode diagnostique de référence. L'échographie, généralement couplée à un examen Doppler, se développe progressivement. C'est un outil complémentaire utile dans le suivi des lésions athéromateuses, plus facile à réaliser cependant chez les animaux de grande taille comme peuvent l'être le singe ou le porc.

La deuxième partie de mon travail a consisté à participer au développement d'un modèle primate d'athérosclérose dans lequel les lésions se développent suite à l'administration d'une alimentation riche en cholestérol. Ce travail a été réalisé avec le laboratoire Cynbiose localisé sur le site de VetAgroSup. Après les treize mois de l'étude, les singes présentent de nombreuses lésions mises en évidence au cours de l'examen échographique. L'examen histologique confirme la présence de plaques d'athéromes et permet de définir leur stade d'évolution.

Des améliorations concernant l'alimentation (en particulier en se cantonnant à un régime hyperlipidique strict) et la formation des groupes de singes sont encore à apporter afin d'améliorer la sensibilité des sujets à l'athérosclérose. L'insuffisance rénale consécutive à l'administration d'un régime riche en cholestérol chez le singe constitue un obstacle à la réalisation du modèle. Nos résultats sont cependant très encourageants car des lésions d'athérosclérose apparaissent rapidement après la mise en place de ce régime.

Thèse de M William Randle

Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire

Dr V. LOUZIER
VetAgro Sup - Campus Vétérinaire
Unité de Pharmacologie et Thérapeutique
1, avenue Bourgelat
69280 Marcy l'Etoile
Tél. : +33(0) 4 78 87 27 60

Le Directeur général
VetAgro Sup
Par délégation
Pr F. Grain - DEVE
VetAgro Sup
Campus Vétérinaire

Le Président de la thèse

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le
27 NOV. 2013
Le Président de l'Université
Professeur F. NIGIDIY

Bibliographie :

ABOYANS V & B, T. 2010. Evaluation et prévention des risques cardiovasculaires. *In:* MASSON, E. (ed.) *Traité de médecine vasculaire. Principes de bases, maladies artérielles.*

ALLAIRE E. 2003. Remodelage pariétal dans l'athérosclérose. *In:* MASSON (ed.) *L'Athérosclérose Physiologie, diagnostics, thérapeutiques.*

ANDERSON J.L. 2012. Spontaneous Atherosclerosis in Pigeons: A Good Model of Human Disease *In:* PARTHASARATHY, S. (ed.) *Atherogenesis.*

ANTONIA, P.-M. & AL., E. 2012. *Etude quantitative de la paroi vasculaire* [Online]. http://ultrasonographie-vasculaire.etud.univ-montp1.fr/la-quantification-en-ultrasonographie-vasculaire/etude-quantitative-de-la-paroi-vasculaire/. [Accessed 15 novembre 1013 2013].

ASSMANN G., CULLEN P., JOSSA F., LEWIS B. & M., M. 1999. Coronary heart disease: reducing the risk: the scientific background to primary and secondary prevention of coronary heart disease. A worldwide view. International Task force for the Prevention of Coronary Heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol,* 19**,** 1819-24.

AZIZI & AL., E. 2011. ATHEROSCLEROSE. *In:* MASSON, E. (ed.) *Traité de médecine vasculaire Principes de base, maladies artérielles.*

BAROUKH N. & AL., E. 2003. Les animaux génétiquement modifiés Etude du transport des lipides et de l'athérosclérose. *Annales de l'institut Pasteur,* 11**,** 63 - 88.

BARTHEZ P. 2002. L'image ultrasonore, formation de l'image. *Bases physique et technique en imagerie médicale.*

BLANKENHORN, D. H. & KRAMSCH, D. M. 1989. Reversal of atherosis and sclerosis. The two components of atherosclerosis. *Circulation,* 79**,** 1-7.

BOND, M. G., BULLOCK, B. C., BELLINGER, D. A. & HAMM, T. E. 1980. Myocardial infarction in a large colony of nonhuman primates with coronary artery atherosclerosis. *Am J Pathol,* 101**,** 675-92.

BOND, M. G., WILMOTH, S. K., GARDIN, J. F., BARNES, R. W. & SAWYER, J. K. 1985. Noninvasive assessment of atherosclerosis in nonhuman primates. *Adv Exp Med Biol,* 183**,** 189-95.

BOULON C. , LUIZY F. & F., B. 2010. Mesure de l'épaisseur intima-media. *In:* MASSON, E. (ed.) *Traité de médecine vasculaire. Principes de bases, maladies artérielles.*

BOURDILLON M.C. , KALOPISSIS A.D. & P., H. 2003. Modèles animaux d'athérosclérose : modèles traditionnels et modèles génétiques. *In:* ELSEVIER-MASSON (ed.) *L'athérosclérose Physiopathologie Diagnostics et Thérapeutiques.*

BROCHERIOU I. 2003. Données anatomopathologiques en pathologie vasculaire : l'athérosclérose. *In:* MASSON, E. (ed.) *Traité de médecine vasculaire, principes de base, maladie artérielle.*

BROUSSEAU, M. E. & HOEG, J. M. 1999. Transgenic rabbits as models for atherosclerosis research. *J Lipid Res,* 40**,** 365-75.

BRUNEVAL P. 2003. Anatomopathologie de l'athérosclérose humaine. *L'athérosclérose physiopathologie, diagnostics, thérapeutique***,** 333-345.

CEFALU, W. T. & WAGNER, J. D. 1997. Aging and atherosclerosis in human and nonhuman primates. *Age (Omaha),* 20**,** 15-28.

CHAPMAN, M. J. 1980. Animal lipoproteins: chemistry, structure, and comparative aspects. *J Lipid Res,* 21**,** 789-853.

CLARKSON, T. B., PRICHARD, R. W., NETSKY, M. G. & LOFLAND, H. B. 1959.

Atherosclerosis in pigeons; its spontaneous occurrence and resemblance to human atherosclerosis. *AMA Arch Pathol,* 68**,** 143-7.

COLLÈGE DES ENSEIGNANTS DE MÉDECINE VASCULAIRE & ANGIOWEB 2010. Artériopathie oblitérante des membres inférieurs. *In:* MASSON, E. (ed.) *Traité de médecine vasculaire. Principes de base, maladies artérielles.*

COUDERC R. . 2006. *Dépistage du risque cardiovasculaire chez les sujets jeunes* [Online]. http://www.nsfa.asso.fr/spip.php?article1076. [Accessed 16 Septembre 2013 2013].

CRIŞAN, S. 2012. Ultrasound examination of the femoral and popliteal arteries. *Med Ultrason,* 14**,** 74-7.

CUNNINGHAM, K. S. & GOTLIEB, A. I. 2005. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest.* United States.

DALLONGEVILLE J. & AL., E. 2010. Epidémiologie des facteurs de risques cardiovasculaires. *In:* MASSON, E. (ed.) *Traité de médecine vasculaire. Principes de bases, maladies artérielles.*

DAUGHERTY, A. 2002. Mouse models of atherosclerosis. *Am J Med Sci,* 323**,** 3-10.

DETWEILER, D. K. 1964. Genetic aspects of cardiovascular diseases in animals. *Circulation,* 30**,** 114-27.

DHANYA S.P. & C.G., H. 2008. Small animal models of atherosclerosis. *Calicut Medical Journa,* 6.

DREW A. 2001. Animal model of Diet-induced atherosclerosis. *In:* A.F.DREW (ed.) *ATHEROSCLEROSIS Experimental methods and protocols.*

FERNANDEZ, M. L. & VOLEK, J. S. 2006. Guinea pigs: a suitable animal model to study lipoprotein metabolism, atherosclerosis and inflammation. *Nutr Metab (Lond),* 3**,** 17.

FINLAYSON, R. 1983. Spontaneous arterial disease in animals. *J R Soc Med,* 76**,** 811-3.

FINLAYSON, R., SYMONS, C. & FIENNES, R. N. 1962. Atherosclerosis: a comparative study. *Br Med J,* 1**,** 501-7.

FOX H. 1923. Disease in captive wild mammals and birds. Incidence, Description, comparison. *Journal of Mammalogy***,** 136-143.

FRANCK M. , AMAR L. , BRUNEVAL P. & M., A. 2011. ATHEROSCLEROSE. *Traité de médecine vasculaire,* Tome 1**,** 287 - 297.

FRANGOS, S. G., GAHTAN, V. & SUMPIO, B. 1999. Localization of atherosclerosis: role of hemodynamics. *Arch Surg,* 134**,** 1142-9.

FURELAUD G. . 2003. *L'invalidation d'un gène : "Le Knock out"* [Online]. http://www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm. [Accessed 5 juillet 2013 2013].

GAEMPERLI O. & AL., E. 2012. Imaging intraplaque inflammation in carotid atherosclerosis with 11C-PK11195 positron emission tomography/computed tomography. *Eur Heart J,* 33**,** 1902-10.

GETZ, G. S. & REARDON, C. A. 2012. Animal models of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol,* 32**,** 1104-15.

GILLINGS, N. 2013. Radiotracers for positron emission tomography imaging. *MAGMA,* 26**,** 149-58.

GOFMAN, J. W., LINDGREN, F. T. & ELLIOTT, H. 1949. Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. *J Biol Chem,* 179**,** 973-9.

HADJIISKY, P., BOURDILLON, M. C. & GROSGOGEAT, Y. 1991. Experimental models of atherosclerosis. Contribution, limits and trends. *Arch Mal Coeur Vaiss,* 84**,** 1593-603.

HAG A. M. & AL., E. 2013. Small animal positron emission tomography imaging and in vivo studies of atherosclerosis. *Clin Physiol Funct Imaging,* 33**,** 173-85.

HANSSON, G. K. 2005. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* United States.

KAHLE W. , LEONHARDT H. & W., P. 1990. Viscères. *Anatomie,* Tome 2.
KATZ L.N. 1958. Experimental atherosclerosis. *Circulation,* V**,** 101-114.
KOLETSKY, S. 1975. Animal model: obese hypertensive rat. *Am J Pathol,* 81**,** 463-6.
LAGARDE M. & H., L. 2003. Impacts des facteurs nutritionnels et environnementaux sur l'athérosclérose. *In:* MASSON (ed.) *L'athérosclérose Physiopahtologie, Diagnostic, Traitement.*
LAGROST L., MASSON D. & J., C. 2003. Lipoprotéines et métabolisme lipidique. *In:* MASSON (ed.) *L'athérosclérose Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques.*
LIBBY, P. 2000. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med,* 247**,** 349-58.
LIBBY, P., RIDKER, P. M. & MASERI, A. 2002. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation,* 105**,** 1135-43.
LIMAS, C., WESTRUM, B. & LIMAS, C. J. 1980. The evolution of vascular changes in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Pathol,* 98**,** 357-84.
LUSIS, A. J. 2000. Atherosclerosis. *Nature,* 407**,** 233-41.
MILLER L. E. & AL., E. 1985. Effects of caponization on body weight, atherosclerosis, and cardiovascular variables in hypertensive and hypotensive turkey lines. *Poult Sci,* 64**,** 1002-14.
NIGRO, P., ABE, J. & BERK, B. C. 2011. Flow shear stress and atherosclerosis: a matter of site specificity. *Antioxid Redox Signal,* 15**,** 1405-14.
NUTRITION, C. O. A. 2003. *Nutrient Requirements of Nonhuman Primates,* National Academic press.
ORGANIZATION, W. H. 1958. Classification of atherosclerosis lesions : report of a study group. *World Health Organization Technical report series,* 143**,** 1 - 20.
PAGE I.H. 1954. Atherosclerosis, An Introduction. *Circulation,* 10 (1)**,** 1-27.
PATRIZIA NIGRO, J.-I. A., AND BRADFORD C. BERK 2011. Flow Shear Stress and Atherosclerosis:A Matter of Site Specificity. *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING.*
PHILIPPE, L. 2006. Athérosclérose : modèles physiopathologiques *In:* BRAIN, S. L. A. C. (ed.) *Cardiologie : 33 concepts et méthodes.*
PINTO, Y. M., PAUL, M. & GANTEN, D. 1998. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res,* 39**,** 77-88.
PRESCOTT M. F. & AL., E. 1991. Development of complex atherosclerotic lesions in pigs with inherited hyper-LDL cholesterolemia bearing mutant alleles for apolipoprotein B. *Am J Pathol,* 139**,** 139-47.
RAINES, E. W. & ROSS, R. 1993. Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *Br Heart J,* 69**,** S30-7.
RAPACZ J. & AL., E. 1986. Lipoprotein mutations in pigs are associated with elevated plasma cholesterol and atherosclerosis. *Science,* 234**,** 1573-7.
RATCLIFFE, H. L. & CRONIN, M. T. 1958. Changing frequency of arteriosclerosis in mammals and birds at the Philadelphia Zoological Garden; review of autopsy records. *Circulation,* 18**,** 41-52.
RATCLIFFE, H. L., YERASIMIDES, T. G. & ELLIOTT, G. A. 1960. Changes in the character and location of arterial lesions in mammals and birds in the Philadelphia Zoological Garden. *Circulation,* 21**,** 730-8.
RICK LEE D. & CJ., D. Association of Primate Veterinarians, Primate Formulary.
ROCCA A. & J.C., M. 2007. Les forces de cisaillements endothéliales : impacts sur l'athérosclérose. *Cardiologie conférences scientifiques.* Toronto.
ROWSELL, H. C., DOWNIE, H. G. & MUSTARD, J. F. 1960. Comparison of the effect of egg yolk or butter on the development of atherosclerosis in swine. *Can Med Assoc J,* 83**,** 1175-86.

RUSSELL W. & R., B. 1959. *The Principles of Humane Experimental Technique,* United States.

SAUER, B. & HENDERSON, N. 1988. Site-specific DNA recombination in mammalian cells by the Cre recombinase of bacteriophage P1. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 85**,** 5166-70.

SCHWENKE, D. C. & CAREW, T. E. 1989. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. II. Selective retention of LDL vs. selective increases in LDL permeability in susceptible sites of arteries. *Arteriosclerosis,* 9**,** 908-18.

SHIVELY, C. A. & CLARKSON, T. B. 1994. Social status and coronary artery atherosclerosis in female monkeys. *Arterioscler Thromb,* 14**,** 721-6.

SHIVELY, C. A., REGISTER, T. C. & CLARKSON, T. B. 2009. Social stress, visceral obesity, and coronary artery atherosclerosis in female primates. *Obesity (Silver Spring),* 17**,** 1513-20.

SMALL D. M. & AL., E. 1984. Physicochemical and histological changes in the arterial wall of nonhuman primates during progression and regression of atherosclerosis. *J Clin Invest,* 73**,** 1590-605.

SPAULDING C. & AL., E. 2003. Imagerie de la plaque. *In:* MASSON (ed.) *L'Athérosclérose Physiologie, diagnostics, thérapeutiques.*

STARY H. C. & AL., E. 1994. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation,* 89**,** 2462-78.

STARY H. C. & AL., E. 1995. A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis. A Report From the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation,* 92**,** 1355-1374.

STEFANIDIS C. 2011. *Artériographie ultrasonique aorto-périphérique*.

STEINBERG, D. 1987. Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation,* 76**,** 508-14.

TALAYERO, B. G. & SACKS, F. M. 2011. The role of triglycerides in atherosclerosis. *Curr Cardiol Rep,* 13**,** 544-52.

TEDGUI A. & J., C. 2003. Pathogenèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes. *In:* MASSON (ed.) *L'athérosclérose physiopathologie, diagnostics, thérapeutique.*

TERAMOTO T. & AL., E. 2007. Executive summary of Japan Atherosclerosis Society (JAS) guideline for diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases for Japanese. *J Atheroscler Thromb,* 14**,** 45-50.

THIERRY, C., PASCALE, D. & CÉCILE, D. 2003. La différenciation de la cellule musculaire lisse dans la pathologie vasculaire. *Médecine thérapeutique cardiovasculaire,* 1.

THOMAS D. 2003. Lutte contre le tabagisme. *In:* MASSON (ed.) *L'athérosclérose Physiopathologie, diagnostics, théraprutiques.*

TOUSSAINT J.F. & AL., E. 2003. Flux artériel et ischémie. *In:* MASSON (ed.) *L'Athérosclérose Physiologie, diagnostics, thérapeutiques.*

TRANQUART F. et al., 2000. Echographie-Doppler des lésions athéromateuses des artères carotides. *Journal de radiologie,* 81**,** 413-420.

VASTESAEGER M. & R., D. 1962. The Natural History of Atherosclerosis. *Circulation,* XXVI**,** 841 - 855.

VINSON A. & AL., E. 2013. Sex-specific heritability of spontaneous lipid levels in an extended pedigree of Indian-origin rhesus macaques (Macaca mulatta). *PLoS One,* 8**,** e72241.

VIRMANI R. & AL., E. 2000. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive

morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol,* 20**,** 1262-75.

WAGNER W. D. & AL., E. 1980. A study of atherosclerosis regression in Macaca mulatta: III. Chemical changes in arteries from animals with atherosclerosis induced for 19 months and regressed for 48 months at plasma cholesterol concentrations of 300 or 200 mg/dl. *Am J Pathol,* 100**,** 633-50.

WEBER S. & AL., E. 2003. Présentations cliniques. *In:* MASSON (ed.) *L'Athérosclérose Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques.*

XIANGDONG L. & AL., E. 2011. Animal models for the atherosclerosis research: a review. *Protein Cell,* 2**,** 189-201.

XIAO Q. 2001. Genetically manipulated models of atherosclerosis in mice. *In:* DREW, A. F. (ed.) *Atherosclerosis: Experimental methods end protocols.* Humana Press ed.

YANNI, A. E. 2004. The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research. *Lab Anim,* 38**,** 246-56.

ANNEXES

ANNEXE 1
Liste des animaux de l'étude

N°essai	N° tatouage	Groupe	Sexe	Espèce	Date de naissance	Pays de naissance
100	7150D	1	Mâle	*Macaca fascicularis*	25/05/2005	Philippines
101	7886B	1	Mâle	*Macaca fascicularis*	17/03/2004	Philippines
102	0BAP8	1	Femelle	*Macaca fascicularis*	05/09/1999	Ile Maurice
103	0WM6	1	Femelle	*Macaca fascicularis*	12/10/1999	Ile Maurice
104	0BBH8	1	Femelle	*Macaca fascicularis*	09/01/1997	Ile Maurice
105	0WV6	1	Femelle	*Macaca fascicularis*	12/10/1997	Ile Maurice
106	0BDB8	1	Femelle	*Macaca fascicularis*	20/09/1993	Ile Maurice
107	BX51	2	Mâle	*Macaca fascicularis*	12/10/2006	Ile Maurice
108	0SX8	2	Femelle	*Macaca fascicularis*	10/07/1999	Ile Maurice
109	0UN8	2	Femelle	*Macaca fascicularis*	19/07/1998	Ile Maurice
110	0UZ8	2	Femelle	*Macaca fascicularis*	24/07/1999	Ile Maurice
111	0BDZ8	2	Femelle	*Macaca fascicularis*	27/09/1998	Ile Maurice
112	0JC6	2	Femelle	*Macaca fascicularis*	18/08/1997	Ile Maurice

ANNEXE 2
Hébergement des animaux

	♂ 107 6 ans		
	♂ 100 *7 ans*	♂ 101 *8 ans*	
COULOIR			
	♀ - 108 *13 ans*	♀ - 109 *14 ans*	♀ - 110 *13 ans*
	♀ - 111 *14 ans*	♀ - 112 *15 ans*	
	♀ - 102 *13 ans*	♀ - 103 *13 ans*	♀ - 104 *15 ans*
PORTE	♀ - 105 *15 ans*	♀ - 106 *19 ans*	

ANNEXE 3
Notice de l'aliment proposé au singe durant l'étude

ssniff® EF Pri DIO, 23 % fat, 45 kJ% fat

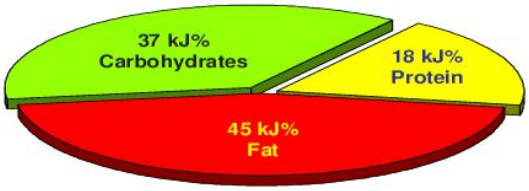
Experimental high fat diet for nonhuman primates with 0.5 % cholesterol

Description

This experimental diet for NHP which contains 45 kJ% fat (23 % fat w/w) and 0.2 % cholesterol induces disorders of the intermediary metabolism (Metabolic Syndrome, diabetes type 2, atherosclerotic defects). However, the time taken until the appearance of first symptoms may depend on several endogenous and exogenous factors (e.g. age, nutritional status, pre-feeding). It is recommended to allow the animal to adapt to that diet over a longer time period (app 2 - 3 weeks) to avoid gastro-intestinal disturbances caused by the high fat content.

Crude Nutrients	[%]
Dry matter	95.0
Crude protein (N x 6.25)	20.1
Crude fat	23.4
Crude fibre	4.0
Crude ash	6.7
N free extracts	40.7
Starch / dextrins	2.2
Sugar	38.0

Energy	[MJ/kg]
Gross Energy (GE)	22.1
Metabolizable Energy (ME) *	19.3



** ME calculated with the Atwater factors*

Minerals	[%]
Calcium	1.30
Phosphorus	0.85
Sodium	0.31
Magnesium	0.23
Potassium	1.00

Fatty acids	[%]
C 4:0	0.19
C 6:0	0.13
C 8:0	0.11
C 10:0	0.18
C 12:0	0.41
C 14:0	1.05
C 16:0	6.27
C 16:1	0.55
C 17:0	0.16
C 18:0	2.76
C 18:1	7.26
C 18:2	2.00
C 18:3	0.25
C 20:0	0.05
C 20:1	0.02
C 20:4	0.03
Cholesterol [mg/kg]	5,000

Amino acids	[%]
Lysine	1.50
Methionine	0.65
Cystine	0.41
Met+Cys	1.06
Threonine	1.02
Tryptophan	0.31
Lys : Met+Cys	1 : 0.71
Lys : Thr	1 : 0.65
Lys : Trp	1 : 0.21
Arginine	1.05
Histidine	0.58
Valine	1.25
Isoleucine	1.06
Leucine	1.83
Phenylalanine	1.03
Phe+Tyr	1.96
Glycine	0.55
Glutamic acid	4.27
Aspartic acid	1.72
Proline	1.86
Alanine	0.73
Serine	1.14

Vitamins	per kg
Vitamin A	17,900 IU
Vitamin D_3	3,100 IU
Vitamin E	170 mg
Vitamin K (as menadione)	20 mg
Vitamin C (stabilized)	1,400 mg
Thiamin (B_1)	18 mg
Riboflavin (B_2)	18 mg
Pyridoxine (B_6)	18 mg
Cobalamin (B_{12})	33 µg
Nicotinic acid	55 mg
Pantothenic acid	60 mg
Folic acid	21 mg
Biotin	350 µg
Choline-Chloride	1,000 mg

Trace elements	per kg
Iron	175 mg
Manganese	98 mg
Zinc	61 mg
Copper	14 mg
Iodine	1.20 mg
Selenium	0.15 mg
Cobalt	0.15 mg

Feed composition
On request

Main products

E39126-30 Meal / Powder
E39126-33 4 mm pellets
E39126-34 10 mm pellets

Production and sale

ssniff Spezialdiäten GmbH
Phone:+49-(0)2921-9658-0
Fax: +49-(0)2921-9658-40
E-Mail mail@ssniff.de
www.ssniff.de / www.ssniff.com

RANDLE William

Mise au point d'un modèle primate d'athérosclérose induit par un régime riche en cholestérol

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon*, le 20 décembre 2013*

RESUME :

L'athérosclérose représente, du fait de ses complications telles que l'infarctus du myocarde ou l'accident vasculaire cérébral, la première cause de mortalité dans les pays industrialisés. Pour comprendre les mécanismes qui conduisent à la formation des plaques athéromateuses et améliorer la prévention de la maladie, les modèles animaux sont primordiaux. Parmi les animaux utilisés, le singe, du fait de sa proximité phylogénétique avec l'homme, est un bon candidat même si, comme la plupart des animaux sauvages, il développe peu de lésions spontanées. C'est pourquoi il est nécessaire dans cette espèce d'avoir recours à des techniques d'induction de la maladie afin de voir se développer des plaques d'athérosclérose.

Le travail présenté ici a été réalisé avec la société Cynbiose. Il a consisté à réaliser un modèle primate d'athérosclérose dans lequel les lésions se développent suite à la mise en place d'une alimentation riche en cholestérol. Après treize mois d'étude, le dosage du cholestérol, des lipoprotéines et des triglycérides ainsi que les examens échographiques et histologiques ont permis d'évaluer et de caractériser les plaques d'athéromes développées par ces singes. Ce travail a contribué à mettre au point un modèle primate non humain d'athérosclérose très prometteur compte tenu de la rapidité avec laquelle les lésions athéromateuses apparaissent suite à la mise en place du régime hyperlipidique.

MOTS CLES :

- Athérosclérose
- Modèles animaux
- Primates
- Cholestérol

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Guy ANNAT
1er Assesseur :	Madame le Professeur Vanessa LOUZIER
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Denis GRANCHER
Membre Invité :	Monsieur le Docteur Hugues CONTAMIN

DATE DE SOUTENANCE : Vendredi 20 décembre 2013

ADRESSE DE L'AUTEUR :

16 impasse Paul Verlaine
69960 CORBAS