




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25488

To cite this version:

Pradel, Bastien . *Impact du régime alimentaire sur l'incidence de l'athérosclérose sur les oiseaux : Exemple d'une collection de milans noirs (Milvus migrans) et milans parasites (Milvus migrans parasiticus)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 130 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

IMPACT DU REGIME ALIMENTAIRE SUR L'INCIDENCE DE L'ATHEROSCLEROSE SUR LES OISEAUX. EXEMPLE D'UNE COLLECTION DE MILANS NOIRS (MILVUS MIGRANS) ET MILANS PARASITES (MILVUS MIGRANS PARASITICUS)

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PRADEL Bastien

Né, le 28 juillet 1993 à TOULOUSE (31)

Directeur de thèse : M. Jean-Luc GUERIN

JURY

PRESIDENT :

M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Jean-Luc GUERIN

M. Guillaume LE LOC'H

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. Charles FACON

Vétérinaire du Réseau Cristal

REPARTITION DES ENSEIGNANTS PAR GRADE

(Mise à jour : 07/09/2018)

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (6)

Mme	CLAUW Martine	SECTION C.N.E.C.A. N° 8	
M.	CONCORDET Didier		3
M.	DELVERDIER Maxence		7
M.	ENJALBERT Francis		6
M.	PETIT Claude		1
M.	SHELCHER François		8

PROFESSEURS 1° CLASSE (17)

M	BAILLY Jean-Denis		4
M.	BERTAGNOLI Stéphane		1
M.	BERTHELOT Xavier		6
M.	BOUSQUET-MELOU Alain		7
M.	BRUGERE Hubert		10
Mme	CADIERGUES Marie-Christine		8
Mme	CHASTANT-MAILLARD Sylvie		6
M.	DUCOS Alain		6
M.	FOUCRAS Gilles		8
Mme	GAYRARD-TROY Véronique		7
M	GUERIN Jean-Luc		6
Mme	HAGEN-PICARD Nicole		6
M.	JACQUIET Philippe		8
M.	LEFEBVRE Hervé		7
M.	MEYER Gilles		8
M.	SANS Pierre		6
Mme	TRUMEL Catherine		7

PROFESSEURS 2° CLASSE (7)

Mme	BOULLIER Séverine		1
Mme	BOURGES-ABELLA Nathalie		7
M.	GUERRE Philippe		7
Mme	LACROUX Caroline		7
M.	MAILLARD Renaud		8
M	MOGICATO Giovanni		7
Mme	LETRON-RAYMOND Isabelle		7

PROFESSEUR CERTIFIÉ (P.C.E.A.)

Mme	MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais
M.	SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (11)

M.	BERGONIER Dominique		6
Mme	DIQUELOU Armelle		8
M.	JAEG Jean-Philippe		7
M.	JOUGLAR Jean-Yves		8
M.	LYAZRHI Faouzi		3
M.	MATHON Didier		8
Mme	MEYNADIER Annabelle		6
Mme	PRIYMENKO Nathalie		6
M.	RABOISSON Didier		6
M	VERWAERDE Patrick		8
M.	VOLMER Romain		1

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (24)

M.	ASIMUS Erik		8
Mme	BENNIS-BRET Lydie		7
Mme	BIBBAL Delphine		4
Mme	BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle		1
Mme	BOUHSIRA Emilie		8
M	CONCHOU Fabrice		8
M	CORBIERE Fabien		8
M.	CUEVAS RAMOS Gabriel		8
Mme	DANIELS Hélène		1
Mme	DAVID Laure		4
Mlle	DEVIERS Alexandra		7
M.	DOUET Jean-Yves		8
Mme	FERRAN Aude		7
Mme	LALLEMAND Elodie		8
Mme	LAVOUE Rachel		8
M.	LE LOC'H Guillaume		8
M	LIENARD Emmanuel		8
Mme	MILA Hanna		6
Mme	MEYNAUD-COLLARD Patricia		8
M.	NOUVEL Laurent		6
Mme	PALIERNE Sophie		8
Mme	PAUL Mathilde		6
M.	VERGNE Timothée		7
Mme	WASET-SZKUTA Agnès		6

A.E.R.C. (6)

Mme	BLONDEL Margaux		8
M.	CARTIAUX Benjamin		7
M.	COMBARROS-GARCIA Daniel		8
Mme	COSTES Laura		4
M.	GAIDE Nicolas		7
M.	JOUSSERAND Nicolas		8

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL (2)

Mme	DORE-BORDE Laura		8
M.	LEYNAUD Vincent		8

Table des matières

Table des matières	3
Tables des abréviations	7
Table des figures	9
Table des tableaux	10
Table des photos.....	10
Table des graphiques.....	11
Table des annexes	11
Introduction.....	12
Partie 1 : L'athérosclérose étude bibliographique.....	14
<i>Chapitre 1 : La physiologie du métabolisme lipidique et l'anatomie du système artérielle chez les vertébrés</i>	<i>15</i>
1.1.1 / Les acides gras, le cholestérol et leurs moyens de transports sanguins	15
1.1.1.1 / Les triglycérides	16
1.1.1.2 / Le cholestérol	16
1.1.1.3 / L'absorption intestinale des lipides et le transport depuis l'intestin jusqu'aux tissus musculaire, adipeux et au foie par les chylomicrons.....	19
1.1.1.4 / Le transport des lipides depuis le foie vers les tissus musculaire et adipeux par les VLDL.....	22
1.1.1.5 / L'approvisionnement en cholestérol des cellules par les LDL	22
1.1.1.6 / Le transport inverse du cholestérol par les HDL	24
1.1.1.7 / Synthèse graphique du transport sanguin des lipides.....	25
1.1.2 / Système artériel des vertébrés	27
1.1.2.1/ Anatomie et organisation structurelle des artères des vertébrés	27
1.1.2.2/ Dynamique de la circulation sanguine	30
<i>Chapitre 2 : Les mécanismes de formation de la plaque athéromateuse et ses conséquences pathologiques</i>	<i>32</i>
1.2.1/ La pénétration, l'accumulation et l'oxydation des lipides dans l'intima des vaisseaux	32
1.2.2/ Le recrutement des cellules inflammatoires.....	33
1.2.3/ Le rôle protecteur des HDL	36
1.2.4/ La formation de la chape fibreuse, le stade lésionnel de la plaque athéromateuse vrai.....	37
1.2.5/ Dégénération cliniques de la plaque d'athérosclérose	40
1.2.5.1/ La sténose.....	41

1.2.5.2/ L'anévrisme et la rupture d'anévrisme.....	41
1.2.5.3/ L'ulcération	42
1.2.5.4/ Les hémorragies intraplaques.....	42
1.2.5.5/ Les thromboses et les occlusions	43
1.2.5.6/ Les embolies.....	45
1.2.6/ Classification histologique des lésions d'athérosclérose.....	46
<i>Chapitre 3 : Présentation clinique, examens complémentaires et traitements de l'athérosclérose chez l'homme.....</i>	<i>49</i>
1.3.1/ Le tableaux cliniques	49
1.3.2/ Les examens complémentaires à valeur diagnostique et l'implication de la biochimie.....	50
1.3.3/ Les traitements.....	52
1.3.4/ Facteurs favorisant	53
1.3.4.1/ L'impact de la génétique.....	53
1.3.4.2/ Facteurs favorisant liés à l'hygiène : l'alimentation et la sédentarité	54
1.3.4.3/ Autres facteurs favorisants	55
1.3.4.4/ L'impact d'agent pathogènes	56
<i>Chapitre 4 : L'athérosclérose aviaire : contribution des Psittacidés</i>	<i>57</i>
1.4.1/ Particularité physiologique et anatomiques des oiseaux.....	57
1.4.2/ L'athérosclérose chez les Psittacidés.....	59
1.4.2.1/ Physiopathologie, étiologie et localisations privilégiées des plaques athéromateuses	60
1.4.2.2/ Signes cliniques.....	60
1.4.2.3 / Diagnostic	61
1.4.2.4 / Gestion médicale.....	63
1.4.3/ Les facteurs de risques de l'athérosclérose aviaire.....	64
1.4.4/ L'athérosclérose chez les rapaces en captivité : état des lieux des connaissances sur les Accipitridés	66
Partie 2 : Le contexte et l'origine de cette étude.....	67
<i>Chapitre 1 : Présentation du Grand Parc du Puy du Fou®.....</i>	<i>67</i>
2.1.1/ La présentation générale du parc.....	67
1.1.2 / L'Académie de Fauconnerie	68
<i>Chapitre 2 : Les espèces concernées par l'étude.....</i>	<i>68</i>
2.2.1/ Le Milan noir (<i>Milvus migrans</i>)	69
2.2.2/ Le Milan parasite (<i>Milvus migrans parasiticus</i>)	70
2.2.3 / L'affaitage de ces espèces et leur détention	71
2.2.4/ L'alimentation	73

<i>Chapitre 3 : Les pratiques l'Académie de Fauconnerie dans la détention et l'élevage des Milans</i>	76
2.3.1/ Les pratiques de reproduction.....	76
2.3.2/ La gestion des oiseaux de spectacle	76
2.3.3/ La gestion commune	78
<i>Chapitre 4 : Historique du cas</i>	78
<i>Chapitre 5 : Les problématiques formulées</i>	80
Partie 3 : Etude expérimentale de l'impact de l'alimentation sur l'athérosclérose et sur les paramètres biochimiques liés au métabolisme lipidique	81
<i>Chapitre 1 : Le matériel et la méthode</i>	81
3.1.1/ La population concernée	81
3.1.2/ Le suivi de la mortalité et établissement d'un score de susceptibilité d'athérosclérose.....	81
3.1.3/ Mesure du poids	82
3.1.4/ Mesure de la longueur de métatarse	83
3.1.5/ Calcul de l'indice corporel	83
3.1.6/ La méthode de prise de sang et du dosage sanguin du cholestérol, des triglycérides et des HDL.....	84
3.1.7/ L'estimation de la concentration sanguine de VLDL et de LDL par la méthode de FRIEDEWALD	85
3.1.8/ Les logiciels servant à l'analyse descriptive et statistique.....	85
<i>Chapitre 2 : La compilation des données et l'analyse descriptive des valeurs</i>	85
<i>Chapitre 3 : Réponse aux problématiques à l'aide des outils biostatistiques</i> .	93
3.3.1/ / Est-ce que depuis le changement d'alimentation le nombre de morts dû à l'athérosclérose a significativement diminué ?.....	93
3.3.2/ Est-ce que le poids, l'indice corporel (IC) et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ont évolué de manière significative depuis le changement d'alimentation ?	94
3.3.3/ Peut-on établir des facteurs de risques de l'athérosclérose pour notre population de Milans ?	96
3.3.4/ Peut-on établir des valeurs de références pour notre population concernant le poids, l'IC et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ?	97
Partie 4 : Interprétation discussion	99
<i>Chapitre 1 : Interprétation des résultats des quatre problématiques</i>	99

4.1.1/ Est-ce que depuis le changement d'alimentation le nombre de morts dû à l'athérosclérose a significativement diminué ?.....	99
4.1.2/ Est-ce que le poids, l'indice corporel (IC) et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ont évolué de manière significative depuis le changement d'alimentation ?	100
4.1.3/ Peut-on établir des facteurs de risques de l'athérosclérose pour notre population de Milans ?	102
4.1.4/ Peut-on établir des valeurs de références pour notre population concernant le poids, l'IC et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ?	103
4.1.5 / Bilan des quatre problématiques.....	106
<i>Chapitre 2 : Les limites du protocole et les perspectives d'amélioration</i>	<i>106</i>
4.2.1/ La régularité des prises de sangs	106
4.2.2/ Les limites des mesures.....	107
4.2.3/ Efficacité du changement d'alimentation	107
4.2.4/ Ecart alimentaire de l'année 2015	108
4.2.5 / La quantité de cholestérol dans l'alimentation inconnue.....	108
<i>Chapitre 3 : Quel est l'apport de ce travail et les perspectives qu'il amène ?</i>	<i>109</i>
4.3.1/ Que peut-on proposer concrètement aux fauconniers à la suite de ce travail ?	109
4.3.2/ Quel sont les perspectives d'amélioration de cette étude ?	110
4.3.3/ Quel peut être l'apport de méthodes autre que les techniques biochimiques dans ce sujet ?.....	111
Conclusion	112
Travaux cités	114
Table des annexes	122

Tables des abréviations

A.	Artère
AHA	<i>American Heart Association</i>
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc	Adénosine MonoPhosphate cyclique
ANFA	L'Association Nationale des Fauconniers et Autoursier Français
ANOVA	<i>Analyse of Variance</i>
Apo	Apolipoprotéine
APS	Axe Principal Standard
Asc.	Ascendant
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
BFGF	<i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
CAM	<i>Cell adhesion Molecule</i>
CETP	<i>CholestérylEster Transfer Protein</i>
CITES	<i>Convention on International Trade of Endangered Species</i>
Chol.	Cholestérol
Chyl.	Chylomicrons
Coron.	Coronaire
CRP	<i>C-Reactive Protein</i>
D	Droite
Desc.	Descendant
DRO	Dérivés Réactifs de l'Oxygène
ELAM-1	<i>Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule 1</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
G	Gauche
GRO	<i>Growth Regulation Oncogene</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HMG-CoA	Hydroxyméthylglutaryl-CoenzymeA
Hox-LDL	<i>Higly Oxidised Low Density Lipoprotein</i>
IC	Indice Corporel
ICAM-1	<i>InterCellular Adhesion Molecule 1</i>
IL-1	Interleukine 1

IL-6	Interleukine 6
IL-12	Interleukine 12
IMC	Indice de Masse Corporelle
IME	Indice de Masse Echelonnée
Inf γ	Interferon gamma
INSEE	Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques
IRM	Imagerie par Resonance Magnétique
L	Longueur
LCAT	Lecithine-Cholestérol AcylTransférase
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LEE	Limitante Elastique Externe
LEI	Limitante Elastique Interne
Lig.	Ligament
LPL	Lipoprotéine Lipase
LPO	Ligue de Protection des Oiseaux
M	Masse
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i>
M-CSF	<i>Monocyte Colony Stimulating Factor</i>
Mox-LDL	<i>Midly Oxydized Low Density Lipoprotein</i>
NAC	Nouvel Animal de Compagnie
NADPH	Nicotidamine Adénine Dinucléotide Phosphate (forme réduite)
NO	Monoxyde d'azote
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	<i>Odds Ratio</i>
Pe	Pression d'entrée
PDAY	<i>Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth</i>
PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PPAR	<i>Peroxisome Proliferator Activated Receptors</i>
Ps	Pression de sortie
SR-B1	<i>Scavenger Receptor class B type 1</i>
TGF- α	<i>Transforming Growth Factor alpha</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>

TL	Thorpes-Lleonart
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
Trig.	Triglycérides
UNESCO	<i>United Nation Educational, Scientific and Cultural Organisation</i>
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule 1</i>
Vi	Vitesse instatanée
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
Vtot	Vitesse total

Table des figures

Figure 1 : Formule topologique de la molécule de cholestérol	17
Figure 2 : Résumé des quatre principales étapes de synthèse du cholestérol. Les unités d'isoprènes du squalène sont séparées par des pointillés rouges.....	18
Figure 3: Schéma de l'organisation d'un agrégat lipoprotéine	20
Figure 4: Capture du cholestérol des LDL par une endocytose médiée par des récepteurs.....	23
Figure 5 : Capture des HDL médiée par des récepteurs et élimination du cholestérol du foie	25
Figure 6 : Schéma bilan des mécanismes de transport des acides gras et du cholestérol. Chyl. = Chylomicron, Trig. = Triglycérides.	26
Figure 7 : Schéma de la composition tissulaire des artères.....	28
Figure 8: Schéma de l'anatomie des régions de l'aorte et des premières ramifications artérielles	29
Figure 9 : Schéma des différents types d'écoulements sanguins. Les flèches noires représentent les vecteurs vitesses ponctuels. La flèche rouge représente la somme de ces vecteurs. Un écoulement laminaire peut devenir turbulent lorsque la différence de pression augmente ($P_e \gg P_s$) ou lorsque le diamètre des vaisseaux diminue (flèches vertes).	31
Figure 10: Schéma bilan de la diffusion des LDL, de leur oxydation et de la réaction inflammatoire consécutive	36
Figure 11: (a) Schémas d'une plaque athéromateuse "vrai" et des phénomènes à son origine	38
Figure 12: Schéma du phénomène de remodelage compensatoire. En une plaque athéromateuse modérée en A et une plaque plus sévère en B ; la lumière vasculaire reste inchangée car l'artère augmente de taille et assure un remodelage compensatoire.	39
Figure 13: Schéma des différentes complications d'une plaque d'athérosclérose	40
Figure 14 : Schémas des principales artères en vue ventrale, représentatif de la majorité des Psittaciformes. A. : Artère ; Asc. : Ascendante ; Desc. : Descendante. Les étoiles rouges représentent les principales localisations d'athérosclérose et les étoiles oranges représentent les sites secondaires.....	59

Table des tableaux

Tableau 1 : Les principales lipoprotéines plasmatiques, leur densité et leur composition	21
Tableau 2 : Classification histologique des lésions d'athérosclérose chez l'homme selon l'AHA, et séquence d'évolution des différents types. Une double flèche signifie une réversibilité aisée tandis qu'une flèche en pointillée signifie que la réversibilité est rare et longue.	48
Tableau 3 : Les taux normaux des métabolites lipidiques chez l'homme	51
Tableau 4: Analyse constitutionnelle des proies données au Milans. L'ensemble des pourcentages se basent sur le poids sec.	75
Tableau 5 : Effectives des Milans inclus dans l'étude lors de chaque date d'analyse	81
<i>Tableau 6 : Tableau des effectifs des animaux décédés avant et après le changement d'alimentation selon les différents scores.</i>	<i>94</i>
Tableau 7 : Tableau regroupant les OR et leur intervalle de confiance à 95% pour nos 10 paramètres étudiés. Les paramètres dont l'OR est significatif sont surlignés en gras.	96
Tableau 8 : Tableau regroupant les quantiles 5% et 95% de nos sept paramètres étudiés.....	98
Tableau 9 : Tableau comparatif des valeurs de références en cholestérol de différents Strigiformes par la méthode des quantiles 95%.	105

Table des photos

Photo 1 : Lésions de stries lipidiques au niveau d'une artère humaine (flèches blanches)	35
Photo 2: Image microscopique colorée à l'hématoxyline et à l'éosine d'une plaque athéromateuse instable riche en lipides (flèche rouge) accompagnée d'un thrombus non oblitérant (flèche noire).	44
Photo 3 : Vue macroscopique d'un thrombus murale, peu volumineux, sur le bulbe carotidien (flèche)	45
Photo 4 : (a) Vue macroscopique chez un Milan noir (<i>Milvus migrans</i>) d'une aorte hypertrophiée et indurée (flèche noire) ; (b) Vue macroscopique chez un Milan parasite (<i>Milvus milvus parasiticus</i>) de sang dans la cavité abdominale (flèche bleu ciel) ; (c) Vue macroscopique chez un Milan noir d'une congestion et d'une hypertrophie cardiaque (flèche bleue).....	62
Photo 5: Photo de Milans noirs	69
Photo 6: Photo d'un Milan parasite	71
Photo 7: Photo d'un rapace portant un chaperon	73
Photo 8: Photo d'un Faucon pèlerin (<i>Falco peregrinus</i>) sur un bloc de fauconnerie.....	77

Table des graphiques

Graphique 1 : Histogramme du nombre de Milans décédé par année et par cause.....	87
Graphique 2: Graphique de la moyenne du poids (en g) des animaux en fonction du mois et de l'année : les Milans noirs sont représentés par un trait bleu et les Milans parasites par un trait vert. Les traits foncés représentent les femelles et les clairs les mâles.	88
Graphique 3 : Graphique de la moyenne du poids (en g) des animaux lors des différentes dates de prélèvements hivernaux.....	89
Graphique 4 : Graphique de la moyenne du poids (en g) des animaux lors des différentes années.	91
Graphique 5 : Graphique de la moyenne de l'indice de corporelle (en g) des animaux lors des différentes dates de prélèvements.....	91
Graphique 6 : Graphique de la moyenne de l'indice de corporelle (en g) des animaux lors des différentes années.....	92
Graphique 7: Graphique de la moyenne annuelle de la concentration en cholestérols (chol.), en triglycérides (trig.), en HDL, en LDL et en VLDL (en g/L).	93
Graphique 8 : Variation de la concentration en en triglycérides (en g/L) selon les espèces entre trois dates clés	101

Table des annexes

Annexe 1 : Exemple de rapport d'autopsie fourni par le cabinet LABOVET CONSEIL® des Herbiers concernant un Milan atteint d'athérosclérose.....	122
Annexe 2 : Exemple de rapport d'histologie du Docteur ALBARIC concernant un Milan atteint d'athérosclérose	124
Annexe 3 : Obtention du facteur bAPS selon la méthode de l'axe principal standard.....	125
Annexe 4 : Extrait des premières lignes du tableau regroupant nos données	126
Annexe 5 : Les étapes de l'interprétation d'une table d'ANOVA	126
Annexe 6 : Méthode du rejet des valeurs aberrantes.....	128
Annexe 7 : Calcul du taux de poisson à inclure dans l'alimentation pour respecter le besoin journalier du Milan.....	128

Introduction

L'athérosclérose est définie comme étant une maladie dégénérative et chronique de la paroi artérielle due à l'accumulation de cellules, d'acides gras, de cholestérol de calcium et de débris cellulaires. Cette accumulation forme une lésion que l'on nomme plaque athéromateuse. La plaque athéromateuse peut s'aggraver en créant une sténose, une ischémie, une thrombose, une hémorragie ou un anévrisme (FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016).

La maladie a été décrite chez l'homme dès la première moitié du XIX^{ème} siècle mais c'est le pathologiste allemand Felix Jacob MARCHAND qui a baptisé la maladie en 1904 « Atherosklerose », regroupant dans ce nom deux racines grecs : « atheroma » signifiant « kyste rempli de matière grasseuse » et « skleros » signifiant « dur » (CAPRON, 2018). Elle représente chez l'homme en Europe la première cause de mortalité.

Les premiers cas d'athérosclérose chez l'animal ont été décrits chez la Poule domestique (*Gallus gallus domesticus*) en 1967 à « University of Washington School of Medicine » de manière expérimentale (Benditt, 1977). Le but de l'étude était de trouver un médicament contre l'athérosclérose pour l'homme à travers une étude « cas/témoin ». Afin que les poulets puissent présenter des lésions macroscopiques ils étaient nourris avec un aliment enrichi en cholestérol. En 1972 les premiers cas d'athéroscléroses naturels chez les oiseaux exotiques ont été reportés au zoo de la ville D'Oklahoma. Près de 90% des animaux présentaient des lésions de type plaque athéromateuse. De plus ils ont remarqué que l'incidence était plus élevée chez les oiseaux carnivores (Bohorquez, Stout, 1972).

C'est en 2010 que cette maladie a commencé à être détectée au parc du Puy du Fou. Ce parc possédant une collection de 530 oiseaux a relevé des morts subites sur les Milans parasites (*Milvus migrans parasiticus*) puis sur les Milans noirs (*Milvus migrans*). Un examen nécropsique accompagné d'un examen histologique de ces animaux ont permis d'affirmer que ces animaux étaient morts d'athérosclérose. A partir de janvier 2012 la ration alimentaire hivernale des rapaces a été modifiée afin d'inclure dans la ration 40% de viandes issues de poisson, le reste de la ration étant constituée de viandes issues de mammifères ou d'oiseaux. En parallèle un suivi du poids et des paramètres biochimiques (cholestérol, triglycérides, « High density Lipoprotein », « Low Density Lipoprotein » et « Very Low Density Lipoprotein ») des Milans a été mis en place (Facon et al., 2014).

Dans l'analyse de cette thèse nous avons fixé la fin du cadre temporelle d'étude à la fin de l'année 2017. A partir des données collectées, nous avons cherché à savoir si l'alimentation a eu des effets bénéfiques sur la mortalité, le poids et les paramètres biochimiques. De plus

nous avons aussi cherché à savoir si les paramètres biochimiques ou le poids pouvaient être des facteurs de risques de l'athérosclérose afin de pouvoir s'en servir comme outil diagnostic. Enfin nous avons cherché à établir des valeurs de références pour les paramètres biochimiques afin de servir de référence si un des paramètres est établi comme étant un facteur de risque à intérêt diagnostic.

Partie 1 : L'athérosclérose étude bibliographique

D'après l'OMS (l'Organisation Mondiale de la Santé) les maladies cardio-vasculaires représentent à elles seules 31% de la mortalité totale mondiale chez l'homme (OMS, 2018). La plupart de ces accidents cardio-vasculaires sont reliés à la présence d'une lésion d'athérosclérose. A cause de son enjeu sanitaire d'ordre mondial l'athérosclérose est une maladie qui a principalement été étudiée chez l'homme. Même si on remonte l'étude de cette maladie chez l'animal dès les années 60, ces premières études étaient faites pour mieux comprendre la maladie chez l'homme. Il faudra attendre les années 2000 et le développement de la médecine des Nouveaux Animaux de Compagnie (NAC) pour que l'on s'intéresse à l'athérosclérose en tant que maladie animale. En effet c'est une maladie particulièrement fréquente chez les Psittacidés (Beaufreire, 2013).

Nous allons dans cette partie présenter l'état des lieux des connaissances sur l'athérosclérose. Nous allons débuter par la présentation de la physiologie du transport sanguin des acides gras, car une dégénérescence de ces mécanismes va être à l'origine de la formation de la plaque athéromateuse, puis nous allons nous intéresser au mécanisme de formation de la lésion d'athérosclérose et de l'apparition de la pathologie. Pour ces deux premiers aspects la plupart des informations proviendront des connaissances chez l'homme, où la maladie a été bien étudiée. Ensuite nous nous intéresserons sur la gestion de la maladie chez l'homme en se focalisant principalement sur les facteurs de risques de la maladie. Nous terminerons ainsi sur les connaissances de l'athérosclérose chez les oiseaux. Nous nous intéresserons principalement aux Psittacidés et nous finirons sur un paragraphe sur les études de la maladie qui ont eu lieu chez les rapaces afin d'avoir des modèles d'espèces proches des Milans.

Chapitre 1 : La physiologie du métabolisme lipidique et l'anatomie du système artérielle chez les vertébrés

L'athérosclérose est une maladie qui est dépendante des moyens de transports de ces lipides dans le sang. Afin de mieux comprendre cette maladie nous allons débiter à l'échelle moléculaire en présentant les différents mécanismes entrant en jeu dans le transport des lipides et du cholestérol. Puis nous allons succinctement présenter l'anatomie des vaisseaux sanguins et la physique de l'écoulement sanguin.

1.1.1/ Les acides gras, le cholestérol et leurs moyens de transports sanguins

Avec les glucides, les lipides sont une des principales sources énergétiques présentes dans l'alimentation de tous les êtres vivants du règne animal. En effet on dit qu'ils sont chimio-organotrophes, ils ont besoin de matière organique issue d'autres êtres vivants afin de produire leur propre matière organique. Cette synthèse du vivant nécessite de l'énergie que les animaux vont trouver dans la matière organique, notamment sous forme de lipides.

Les lipides rassemblent des molécules organiques hydrophobes ou amphiphiles comprenant notamment les acides gras, les triglycérides, les phospholipides, les stérols et les vitamines hydrosolubles. Les lipides, à masse égale, sont deux fois plus énergétiques que les glucides. Cependant c'est la propriété amphiphile, à la fois hydrophile et hydrophobe, ou uniquement hydrophobe qui va nous intéresser pour comprendre les mécanismes de transport. Contrairement aux glucides qui sont hydrophiles, les lipides vont suivre des voies d'absorption, de transports sanguins et de distribution aux cellules, adaptées à cette propriété d'hydrophobie.

Parmi ces lipides nous nous intéresserons plus en détail à une molécule le cholestérol (Figure 1). Cette molécule essentielle pour les vertébrés est le précurseur de tous les stérols, comme les glucocorticoïdes (cortisone) ou les hormones sexuelles, œstrogènes et testostérone (JOHNSON, 2015). Le cholestérol joue un rôle majeur dans l'étanchéité des membranes cellulaires.

Comme nous allons le voir plus tard, l'hyperlipémie, à travers les formes de transports des lipides dans le sang, favorise la formation de plaque athéromateuse (Steinberg et al., 1989). Ainsi nous allons dès à présent nous intéresser aux mécanismes de transports sanguins de ces lipides en mettant l'accent notamment sur les mécanismes de transport du cholestérol.

1.1.1.1/ Les triglycérides

Les triglycérides, autrement nommés les triacylglycérols, graisses ou graisses neutres, sont des composés issus de l'estérification de trois acides et d'une molécule de glycérol. On définit par acide gras des hydrocarbures portant une fonction acide carboxylique suivie d'une chaîne hydrocarbonée de 4 à 36 carbones extrêmement réduite. Cette chaîne hydrocarbonée est non ramifiée (exception faite des chaînes contenant un noyau à trois carbones) et peut contenir uniquement des liaisons simples, on parle alors d'acide gras saturé, ou une ou plusieurs liaisons doubles (ou insaturations), on parle d'acide gras insaturé. Ces molécules sont non polaires, hydrophobe et donc fortement insoluble dans l'eau.

Dans la plupart des cellules eucaryotes les triglycérides forment une phase séparée de gouttelette huileuse dans le cytosol aqueux que l'on nomme vacuole. Cette vacuole a une taille variable, elle peut aller jusqu'à remplir entièrement la cellule comme dans les adipocytes, qui sont des cellules spécialisées dans le stockage des triglycérides.

Chez les animaux les triacylglycérols jouent entre autre le rôle du stockage de l'énergie. De par leur état de réduction plus élevés que les glucides, les triglycérides sont deux fois plus énergétiques à masse égale. Cette énergie est libérée à travers un ensemble de réactions d'oxydations nommés bêta-oxydation des acides gras.

Les triglycérides sont synthétisés par les êtres vivants à partir de la réaction d'estérification précédemment évoquée. La principale source d'acide gras des êtres vivants est alimentaire et provient des triglycérides alimentaires saponifiés par la lipase. Cependant les êtres vivants peuvent synthétiser leurs propres acides-gras grâce à l'acide gras synthase mais cela concerne principalement les acides gras utilisés à des fins structurales ou lors d'une alimentation riches en glucides et pauvres en lipides. En effet le foie est capable de synthétiser des triacylglycérols « de novo » à partir du glucose en vue de stocker l'excès énergétique dans les adipocytes.

(LEHNINGER et al., 1993)

1.1.1.2/ Le cholestérol

Le cholestérol est le principal stérol des tissus animaux. Les stérols sont caractérisés par la présence d'un noyau stéroïde (Figure 1) qui est formé de quatre noyaux fusionnés, trois avec six carbones et un avec cinq carbones. Le cholestérol se différencie des autres stérols par :

- un groupement hydroxyle (-OH) en C3
- une insaturation entre C5 et C6

- deux groupements méthyles en C10 et C13
- une chaîne hydrocarbonée de 8 carbones saturés ramifiés en C17, nommée chaîne latérale

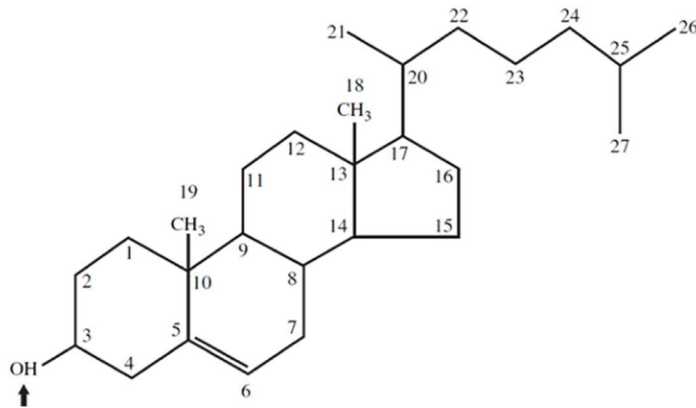


Figure 1 : Formule topologique de la molécule de cholestérol

Extrait de : ABDOLOM A., Chapitre 10 : Biosynthèse du cholestérol, des stéroïdes et des isoprénoïdes (ABDOLOM, 2017).

Le cholestérol est amphiphile, il possède une partie polaire (donc hydrosoluble) avec son groupement hydroxyle et une partie liposoluble avec son noyau stérol et la chaîne latérale. Cette double propriété du cholestérol lui permet de jouer un rôle indispensable dans les membranes cellulaires des animaux. De plus il joue le rôle de précurseur des autres stérols présent dans les organismes comme les acides biliaires (exemple : l'acide taurocholique) ou les hormones stéroïdes (exemples : œstrogène, testostérone). Le cholestérol est aussi un précurseur de la vitamine D.

Le cholestérol se retrouve dans l'alimentation issue d'animaux et il est totalement absent des végétaux et des champignons (les équivalents chez eux sont respectivement les phytostérols et l'ergostérol). Cependant ce n'est pas une molécule essentielle car les animaux peuvent la synthétiser en grande partie dans leur foie (une petite partie de la synthèse se fait dans l'intestin). Cette biosynthèse est complexe se fait en quatre étapes majeures : l'acétate (sous forme d'acétyl-CoenzymeA) forme du mévalonate (1), le mévalonate forme l'isoprène activé (2), l'isoprène activé forme le squalène (3) et le squalène forme du cholestérol (4) (Figure 2).

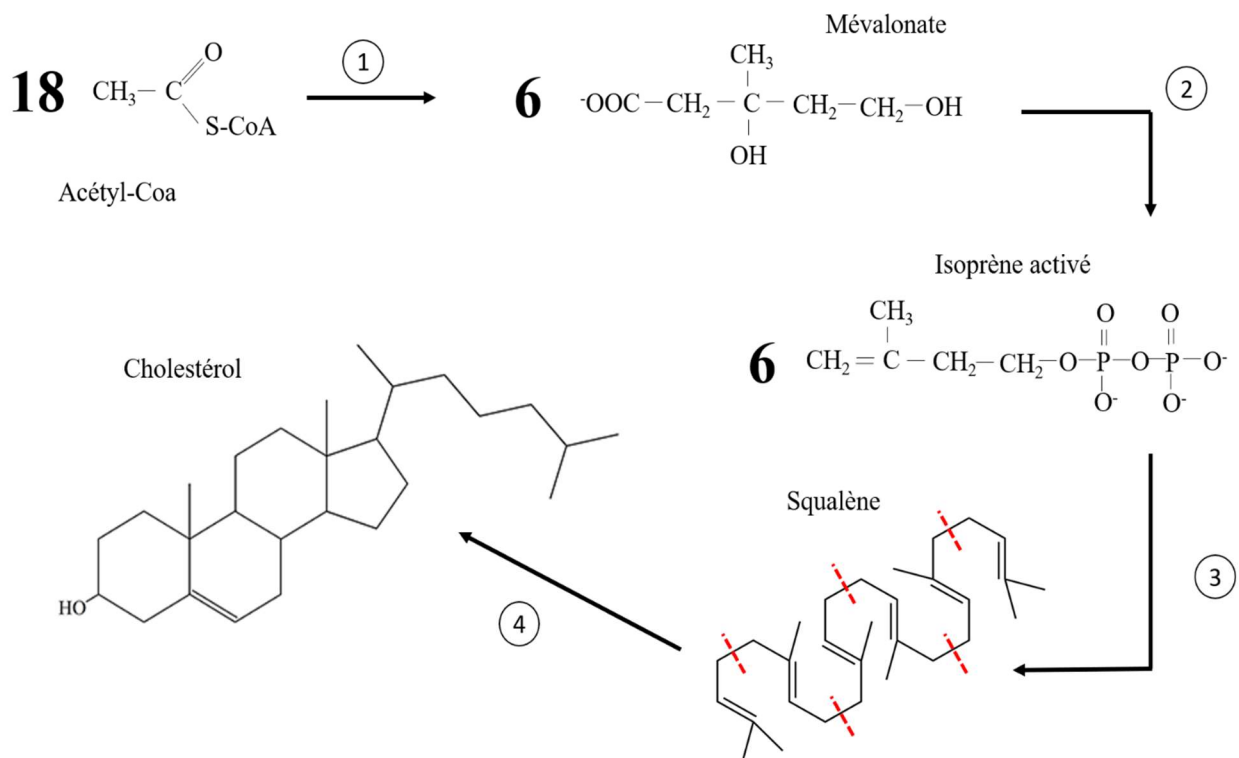


Figure 2 : Résumé des quatre principales étapes de synthèse du cholestérol. Les unités d'isoprènes du squalène sont séparées par des pointillés rouges.

Schéma personnel dont les informations ont été tirées de LEHNINGER ET AL., Principe de biochimie Deuxième édition. (LEHNINGER et al., 1993)

En revanche ce processus chimique est coûteux en énergie, il nécessite 18 Acétyl-CoA (Figure 2). Il est donc avantageux pour un organisme de réguler la synthèse du cholestérol pour qu'il soit seulement un complément du cholestérol d'origine alimentaire. Chez les mammifères cette synthèse est régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol et par des hormones comme le glucagon, qui inhibe sa synthèse, ou l'insuline qui va l'activer.

Comme nous l'avions dit précédemment une grande partie du cholestérol est synthétisée dans le foie, mais seulement une petite partie de ce cholestérol est incorporée dans les membranes hépatiques. Tous les tissus des animaux ont besoin du cholestérol pour les rôles évoqués précédemment. Le cholestérol qui n'est pas utilisé par le foie va être exporté sous plusieurs formes : en cholestérol biliaire, en acides biliaires et en esters de cholestérol. C'est cette troisième forme qui est transporté dans le sang par des particules lipoprotéiques que nous présenterons en suivant. L'acyl-CoA-cholestérol transférase (ACAT) est une enzyme présente uniquement dans le foie et qui est capable de transférer un acide gras d'un coenzyme A sur la fonction hydroxyde du cholestérol. Cette forme estérifiée est plus hydrophobe ce qui va faciliter

son transport par les lipoprotéines. C'est aussi la forme de stockage du cholestérol dans le foie. (LEHNINGER et al., 1993)

Comme nous l'avons évoqué dans les deux dernières parties les triglycérides proviennent majoritairement de l'alimentation tout comme le cholestérol qui lui peut être en plus synthétisé par le foie pour venir en complément des apports alimentaires. En revanche toutes les cellules ont besoins de triacylglycérol et de cholestérol pour fonctionner et ne les produisent pas toutes elle-même. Nous allons donc nous pencher dans les trois parties suivantes à ces moyens de transports sanguins des triglycérides et des esters de cholestérols faisant intervenir les propriétés hydrophobes de ces molécules.

1.1.1.3/L'absorption intestinale des lipides et le transport depuis l'intestin jusqu'aux tissus musculaire, adipeux et au foie par les chylomicrons

Les triacylglycérols et les cholestérols sont libérés des cellules après la digestion chimique à la sortie de l'estomac, mais du fait de leur insolubilité en phase aqueuse ils vont se regrouper et former des micelles lipidiques non absorbables. Les sels biliaires produits par le foie vont jouer le rôle de détergents biologiques transformant ces graisses alimentaires en micelles mixtes de sels biliaires et de triacylglycérols plus finement dispersés. Ces micelles augmentent la fraction de lipides accessibles à l'action des lipases, hydrosolubles, du duodénum. Ces enzymes vont hydrolyser les triacylglycérols en monoglycérides, diglycérides, acides gras libres et en glycérol. Ces produits diffusent à travers la membrane des cellules épithéliales de la muqueuse intestinale grêle proximale ou ils sont retransformés en triglycérides. Le cholestérol alimentaire présent dans les micelles est quant à lui absorbé sous sa forme oxydé et sera estérifié par les cellules de l'épithélium. (LEHNINGER et al., 1993)

Les triglycérides et les esters de cholestérol vont s'accumuler en région basale des entérocytes pour se condenser en chylomicrons avec des apolipoprotéines. Ces protéines amphiphiles peuvent fixer les lipides du sang et jouent le rôle de transporteur des triacylglycérols, des esters de cholestérol, du cholestérol et des phospholipides. Les apolipoprotéines forment des agrégats sphériques contenant au centre les molécules les plus hydrophobes, triglycérides et esters de cholestérol, et en périphérie les chaînes latérales hydrophiles des protéines ou les têtes hydrophiles (en orange) des lipides amphiphiles, cholestérol et phospholipides (Figure 3). Structurellement les apolipoprotéines peuvent être entièrement hydrophiles et constitueront les apolipoprotéines périphériques, ou amphiphiles et constitueront les apolipoprotéines intégrées (Figure 3).

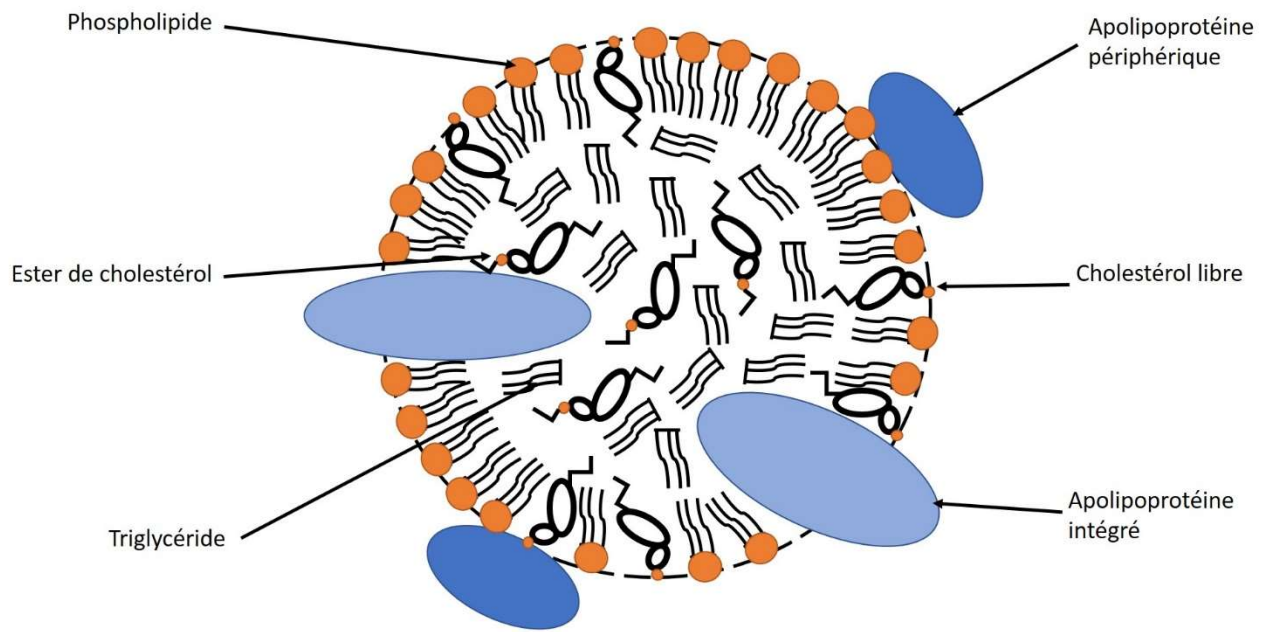


Figure 3: Schéma de l'organisation d'un agrégat lipoprotéique

Schéma personnel dont les informations ont été tirées de LEHNINGER ET AL., Principe de biochimie Deuxième édition. (LEHNINGER et al., 1993)

On peut différencier plusieurs types d'agrégats, dont les chylomicrons font partis, par ultracentrifugation, comme les VLDL (Very Low-Density Lipoprotein), les LDL (Low Density Lipoprotein) ou les HDL (High Density Lipoprotein) dont on précisera les rôles par la suite. Comme leur nom l'indique cette différence se base sur des différences de densité (Tableau 1).

Tableau 1 : Les principales lipoprotéines plasmatiques, leur densité et leur composition

Lipoprotéines	Densité (g/mL)	Protéine (% de masse)	Cholestérol libre (% de masse)	Esters de cholestérol (% de masse)	Triglycérides (% de masse)	Apolipoprotéines présentes chez l'homme
Chylomicron	<1,006	2	1	3	85	ApoB-48, ApoC-II, ApoC-III, ApoE
VLDL	0,95 - 1,006	10	7	12	50	ApoB-100, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III, ApoE
LDL	1,006 – 1,063	23	8	37	10	ApoB-100
HDL	1,063 – 1,210	55	2	15	4	ApoA-I, ApoA-II, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III, ApoD, ApoE

Informations tirées de « Principes de Biochimie » de LEHNINGER ET AL., Principes de Biochimie, Deuxième édition 1993.

Les chylomicrons ont la densité la plus faible et sont constitués principalement de triglycérides et d'esters de cholestérol issu des cholestérols oxydés de l'alimentation. (Tableau 1). Le chylomicron est pauvre en protéines et se caractérise par les apolipoprotéines de surface apoB-48, ApoC-II, ApoC-III et ApoE (Tableau 1) Ces protéines sont les points de reconnaissance des récepteurs cellulaires aux chylomicrons. Un récepteur reconnaissant l'ApoC-II se situant au niveau de la membrane basale des cellules épithéliales de l'intestin vont transférer les chylomicrons vers le système lymphatique à partir duquel ils peuvent aller dans le sang et atteindre les cellules musculaires et adipeuses. Les capillaires de ces tissus vont être riches en lipoprotéines lipases (LPL). Cette enzyme extracellulaire, ancré à la surface luminale des capillaires par l'héparine, est activée par l'ApoC-II et hydrolyse les triglycérides des chylomicrons en acides gras et en glycérol, qui vont être absorbés par les cellules du tissu cible (Figure 6). (LEHNINGER et al., 1993)

Les chylomicrons rémanents appauvris en triglycérides, mais de fait enrichis en cholestérols, vont être captés par endocytose par les cellules hépatiques grâce aux récepteurs de l'ApoE et de l'ApoB-48. Les triacylglycérols persistants vont être oxydés par le foie en corps cétoniques. Si les apports en acides gras alimentaires dépassent les besoins immédiats comme carburant cellulaire et comme précurseurs, ils seront estérifiés en triacylglycérols et intégrés dans un nouveau type d'agrégat d'apolipoprotéines, les VLDL (Figure 6) (LEHNINGER et al., 1993).

1.1.1.4/ Le transport des lipides depuis le foie vers les tissus musculaire et adipeux par les VLDL

Les VLDL sont synthétisés par les hépatocytes et contiennent les apolipoprotéines suivantes : l'ApoB-100, l'ApoC-I, l'ApoC-II, l'ApoC-III et l'ApoE (Tableau 1). Ces lipoprotéines contiennent en plus des triacylglycérols, du cholestérol et des esters de cholestérols (Tableau 1). Comme leur nom l'indique leur densité est faible (Tableau 1). Leur synthèse est activée lorsque l'alimentation contient plus d'acides gras que nécessaire dans l'immédiat ou lorsqu'il y a un excès de glucide dans l'alimentation. Ces glucides sont transformés dans le foie en triacylglycérols et sont inclus dans les VLDL.

Les VLDL sont émis dans la circulation sanguine. Tout comme les chylomicrons la libération des triglycérides, en acides gras, au niveau du muscle et des cellules adipeuses passe par l'activation de la lipoprotéine lipase par l'ApoC-II (Figure 6).

La majeure partie des VLDL rémanents sont captés par les hépatocytes, grâce à des récepteurs spécifiques à l'ApoE, où ils sont dégradés par le lysosome. L'autre partie des VLDL, en lien avec la perte des triacylglycérols, vont se transformer en LDL (Figure 6).

1.1.1.5/ L'approvisionnement en cholestérol des cellules par les LDL

Contrairement aux VLDL les LDL ne sont pas produits par des cellules mais sont issus de certains VLDL appauvries en triglycérides (Figure 6). Les LDL ont une densité plus élevée que les VLDL, sont très riches en cholestérols et en esters de cholestérols et contiennent l'ApoB-100 comme principale apolipoprotéine (Tableau 1). Les autres apolipoprotéines des VLDL sont expulsés par le repli de l'agrégat sur lui-même, consécutive à l'hydrolyse des triglycérides (MORICE, 1999). Tous les tissus périphériques, à l'exception du foie, possèdent des capteurs à l'ApoB-100. Ces capteurs vont endocyter les LDL et les inclure dans un endosome. Cet endosome par la suite fusionne avec un lysosome contenant des enzymes

pouvant hydrolyser les esters de cholestérol qui libèrent le cholestérol et les acides gras dans la membrane du réticulum endoplasmique. Les apolipoprotéines sont aussi hydrolysées pour donner des acides-aminés. Seuls les récepteurs au LDL sont conservés et sont recyclés à la surface des cellules via d'appareil de Golgi (Figure 4). On peut déduire que le rôle des LDL est d'apporter du cholestérol et des esters de cholestérols aux cellules ne le synthétisant pas par elles-mêmes.

(LEHNINGER et al., 1993)

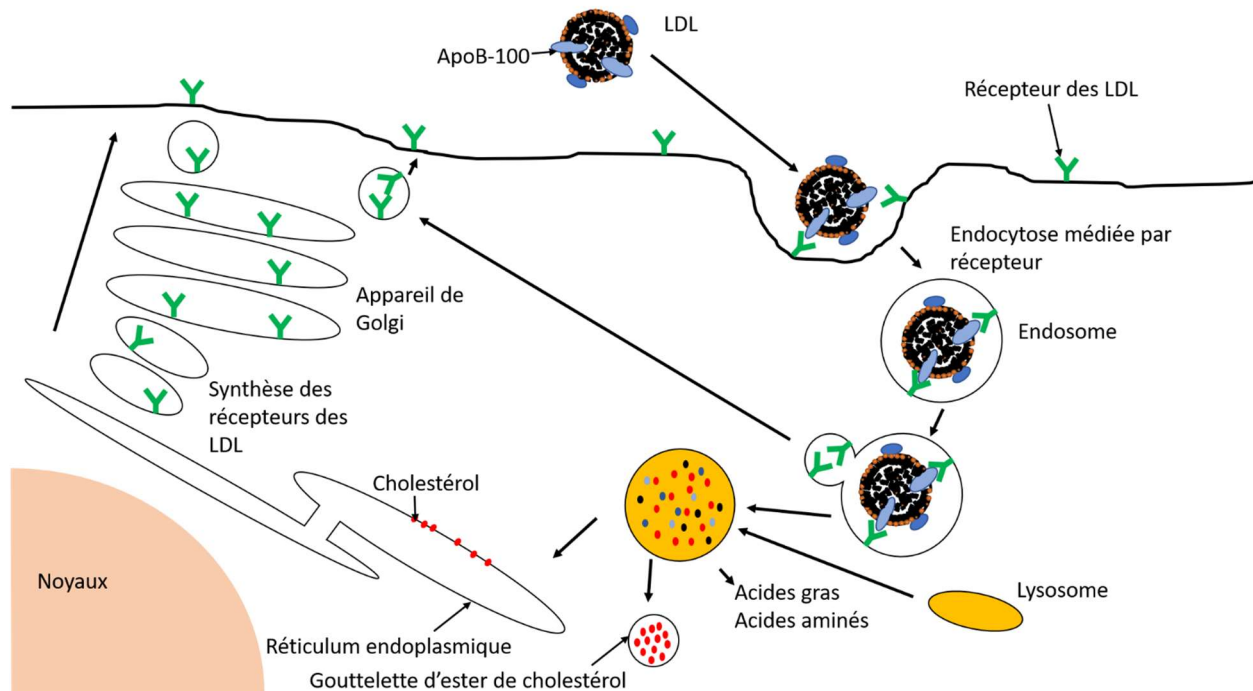


Figure 4: Capture du cholestérol des LDL par une endocytose médiée par des récepteurs

Schéma personnel dont les informations ont été tirées de LEHNINGER ET AL., Principe de biochimie Deuxième édition. (LEHNINGER et al., 1993)

Selon leur composition et leur taille les LDL sont plus au moins bien reconnus par les récepteurs à l'ApoB-100. Les LDL petits, denses et riches en triglycérides sont moins bien reconnus par les récepteurs et ont donc une demi-vie sanguine plus élevée (Dejager et al., 1995). Lorsque les apports de cholestérol dépassent les besoins des cellules, la concentration intracytoplasmique en cholestérol augmente et la part de LDL non absorbé augmente par inhibition du recyclage et de la synthèse des récepteurs au LDL (LEHNINGER et al., 1993). Les LDL non absorbés s'accumulent et ont une probabilité plus élevée de s'oxyder. Nous allons voir par la suite que c'est l'oxydation des LDL, principalement, qui va entraîner la formation de la plaque athéromateuse.

1.1.1.6/ Le transport inverse du cholestérol par les HDL

Le quatrième type d'agrégat lipoprotéique est nommé HDL à cause de leur densité élevée (Tableau 1). Les HDL sont synthétisés en majeure partie par les hépatocytes, mais aussi par les entérocytes. Lors de leur synthèse ils sont très riches en protéines, pauvres en cholestérol et n'ont pas du tout d'esters de cholestérols (Tableau 1). Ils ont une forme lenticulaire et on peut les qualifier à ce niveau d'HDL native ou discoïdale (Gautier et al., 2011). Parmi les protéines on retrouve principalement l'ApoC-I, l'ApoC-II mais aussi l'ApoC-III, l'ApoD, l'ApoE, l'ApoA-I et l'ApoA-II (Tableau 1). En plus des apolipoprotéines on retrouve dans les HDL une enzyme la lécithine-cholestérol acyl transférase (LCAT) capable de former, à l'aide de son co-facteur l'ApoA-I, des esters de cholestérol à partir du cholestérol et de la lécithine (un phospholipide). Les HDL captent le cholestérol et la lécithine à partir des membranes des cellules périphériques mais aussi à partir des rémanents de VLDL et de chylomicrons et les intègrent dans l'agrégat sous forme d'ester de cholestérol (Figure 6) (Gautier et al., 2011).

Cette synthèse d'ester de cholestérol va former un noyau hydrophobe qui va donner une forme plus sphérique à l'HDL. On parle ainsi de HDL mature qui est beaucoup plus riche en cholestérol et en esters de cholestérol que l'HDL native. Chez l'homme une petite partie des esters de cholestérol peut être échangée contre des triacylglycérols des apolipoprotéines contenant des apoB (principalement les VLDL), grâce à une protéine de transfert des cholestérols (CholestérylEster Transfer Protein : CETP) présente dans le plasma. La lipase hépatique va pouvoir hydrolyser les triglycérides du HDL nouvellement échangés. Cela entraîne un appauvrissement global du HDL en esters de cholestérol qui va amener à scinder spontanément le HDL mature en HDL mature de petite taille et une HDL native qui pourra de nouveau capter du cholestérol (Figure 6) (Gautier, Masson, et Lagrost 2011).

Cependant la majeure partie des esters de cholestérols vont être captés par les hépatocytes grâce au récepteur SR-B1 qui reconnaissent spécifiquement l'ApoA-1 des HDL (Gautier et al., 2011). Les HDL vont être endocytés et les esters de cholestérols vont se transférer spontanément sur la membrane de l'hépatocyte. Les apolipoprotéines et quelques molécules de cholestérols vont être recyclés et libérés pour former de nouveaux HDL natives dans le sang. Les esters de cholestérols sont quant à eux excrétés et éliminés dans la bile (Figure 5).

Ces mécanismes complexes nous permettent de dire que les HDL ont principalement pour rôle de recycler les excès de cholestérols depuis les tissus périphériques vers le foie. Et diminuer la concentration sanguine en LDL à travers la diminution de la concentration en cholestérol intracellulaire. (Gautier et al., 2011)

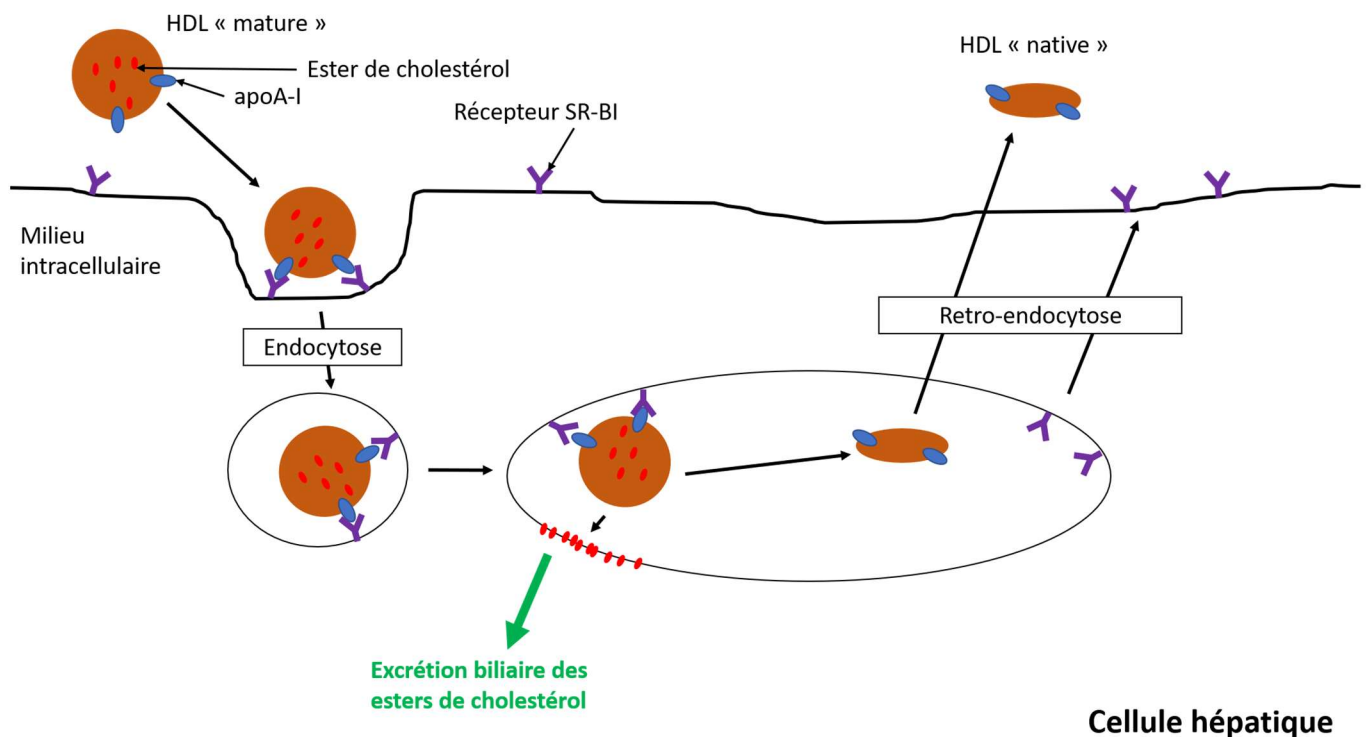


Figure 5 : Capture des HDL médiée par des récepteurs et élimination du cholestérol du foie

Schéma personnel dont les informations ont été tirées de GAUTIER ET AL., Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL). (Gautier et al., 2011)

1.1.1.7/ Synthèse graphique du transport sanguin des lipides

A partir de ce que nous avons décrits nous remarquons que le métabolisme des lipoprotéines s'articule autour de trois voies :

- Une voie entéro-hépatique qui transporte, grâce aux chylomicrons, les triglycérides et le cholestérol depuis les entérocytes vers les cellules périphériques et le foie (flèches bleues).
- Une voie d'apport, assuré par les VLDL et les LDL, des triglycérides pour l'un et du cholestérol pour l'autre depuis le foie vers les tissus périphériques (flèches rouges).
- Une voie de retour nommée en anglais « Reverse Cholesterol Transport » permettant le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie en vue de son élimination (flèches noires). (Gautier et al., 2011)

Ces mécanismes ont été synthétisés dans la Figure 6.

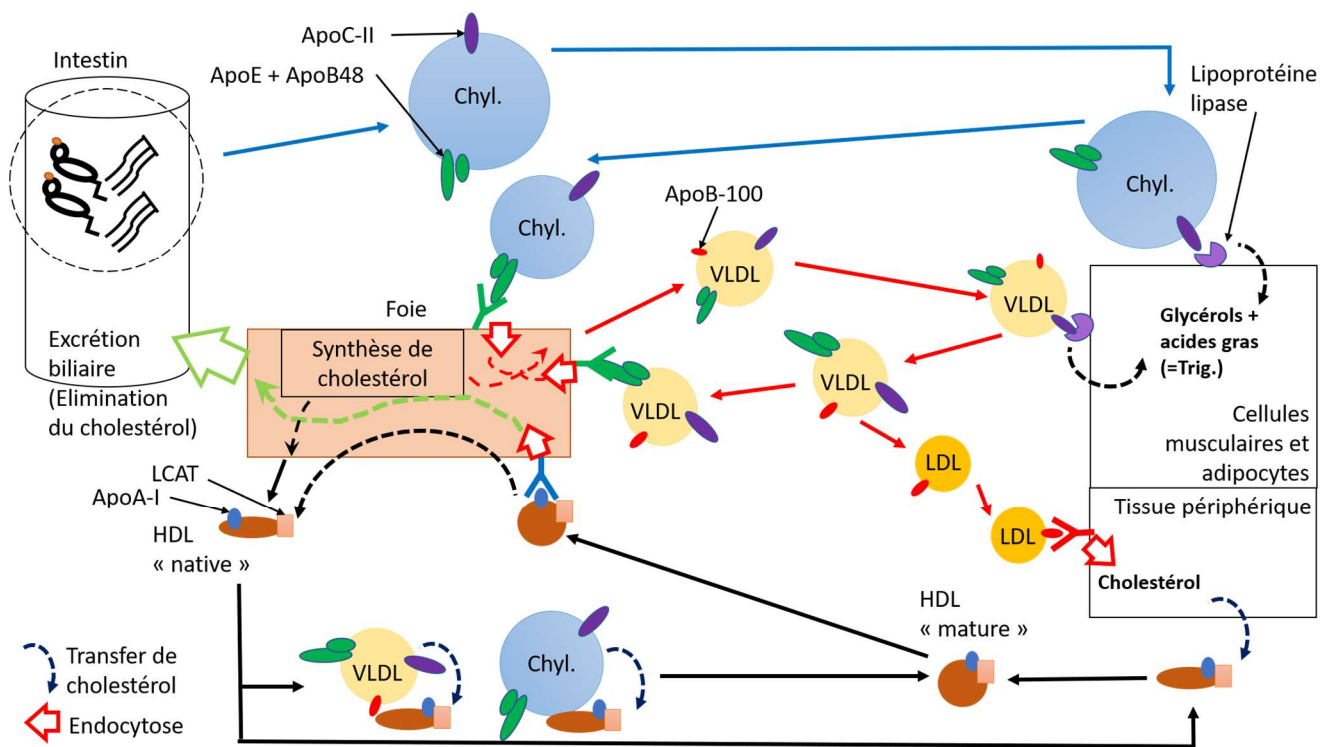


Figure 6 : Schéma bilan des mécanismes de transport des acides gras et du cholestérol. Chyl. = Chylomicron, Trig. = Triglycérides.

Schéma personnel.

L'ensemble de ces réactions décrit le transport spécifique des lipides dans le sang. Il existe un transport non spécifique des lipides assuré par les parties hydrophobes de l'albumine qui est plutôt anecdotique.

Dans ce transport spécifique, on remarque déjà une opposition entre les LDL qui apportent le cholestérol aux cellules et les HDL qui le recyclent vers le foie. De plus en captant le cholestérol des chylomicrons et des VLDL, les HDL préviennent la transformation des VLDL en LDL. Ainsi par ces deux mécanismes les HDL vont jouer un rôle dans la réduction de la concentration sanguine en LDL et plus la concentration en LDL baisse moins ceux-ci ont de risques de s'oxyder.

Le grand public et les médias parlent du « bon cholestérol » pour désigner les HDL et du « mauvais cholestérol » pour désigner les LDL, ce qui en dit long sur leur rôle dans l'athérosclérose et sur leur opposition.

1.1.2/ Système artériel des vertébrés

Dans cette partie nous allons nous intéresser à l'organisation structurelle des artères et aux principes dynamiques de l'écoulement du sang afin d'éclairer la physiopathologie de l'athérosclérose.

1.1.2.1/ Anatomie et organisation structurelle des artères des vertébrés

Le système artériel regroupe l'ensemble des organes dont la fonction est de transporter le sang depuis le cœur vers les organes, à l'opposé du système veineux qui transporte le sang des organes vers le cœur. La plupart des artères transportent du sang oxygéné à l'exception des artères pulmonaires qui transportent du sang désoxygéné vers les poumons en vue d'être réoxygéné.

Les artères ont une organisation tubulaire. Ce tube est constitué d'une paroi cellulaire en trois couches : la « tunica intima » (ou intima) , la « tunica media » (ou media) et la « tunica adventitia » (ou adventice) ; listées de manière centrifuge. La zone du tube ou circule le sang est nommé lumen (Figure 7).

L'intima est constituée de cellules épithéliales au contact du lumen et d'une matrice extracellulaire riche en fibres élastiques nommée espace sous endothéliale. L'adventice est constituée principalement de fibres élastiques jointives. Entre ces deux tuniques la media des artères est constituée de muscles lisses accompagnés d'une grande quantité de fibres élastiques. Entre la media et l'intima se trouve une ceinture très riche en fibres élastiques nommée la limitante élastique interne (LEI). Une deuxième ceinture riche en fibres élastiques se trouve entre la media et l'adventice et se nomme limitante élastique externe (LEE) (Figure 7) (KARDONG, 2015).

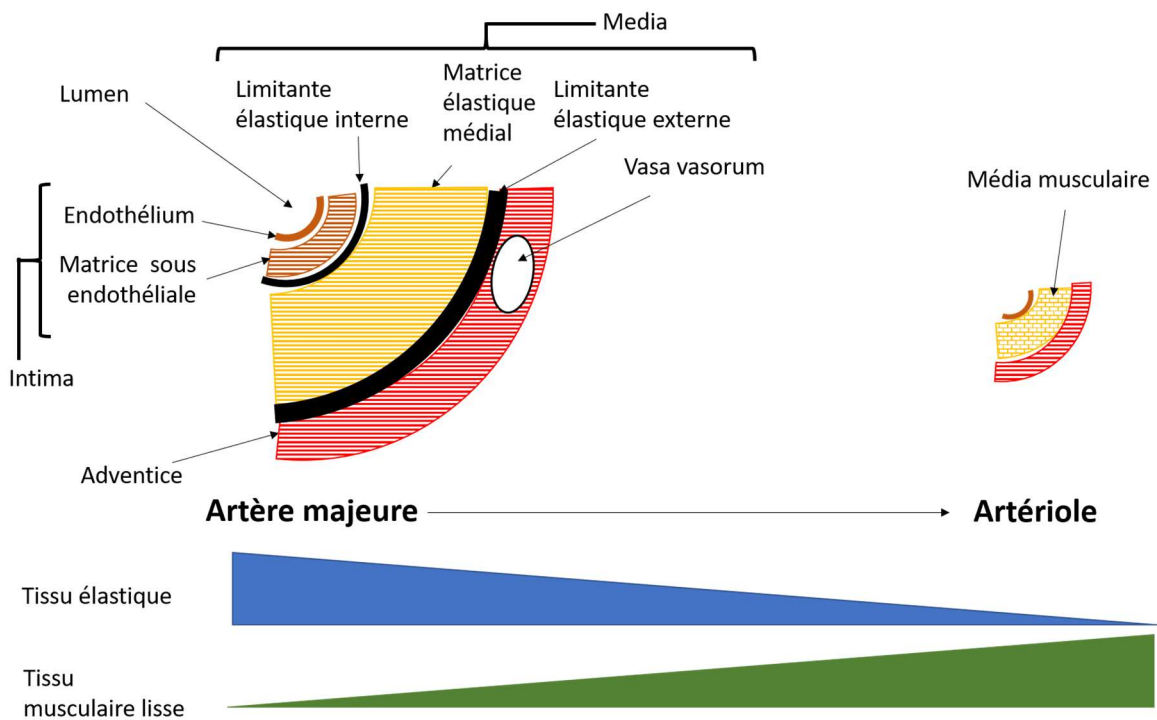


Figure 7 : Schéma de la composition tissulaire des artères.

Schéma personnel dont les informations ont été tirées de KARDONG, Vertebrates : Comparative Anatomy, Function, Evolution, Seventh Edition. (KARDONG, 2015)

Il existe différentes tailles d'artères. La plus grosse d'entre elles est l'aorte et se situe à la sortie du ventricule gauche du cœur et peut être divisée en quatre régions anatomiques : l'aorte ascendante (1), l'arc de l'aorte (2), l'aorte descendante (3) et la terminaison de l'aorte (4) (Figure 8). L'aorte descendante est elle-même divisée en deux parties l'aorte thoracique, crânialement au hiatus aortique du diaphragme, et l'aorte abdominale caudalement (Figure 8). Cette aorte se divise en artères majeures qui vont irriguer différentes régions de l'organisme comme les artères iliaques qui irriguent le pelvis et les membres pelviens ou le tronc artériel brachio-céphalique qui irrigue comme son nom l'indique l'encéphale et les membres thoraciques. Ces artères se ramifient elle-même en artères plus petites et ainsi de suite. Les artères ayant le calibre le plus petit sont nommées artérioles (KARDONG, 2015).

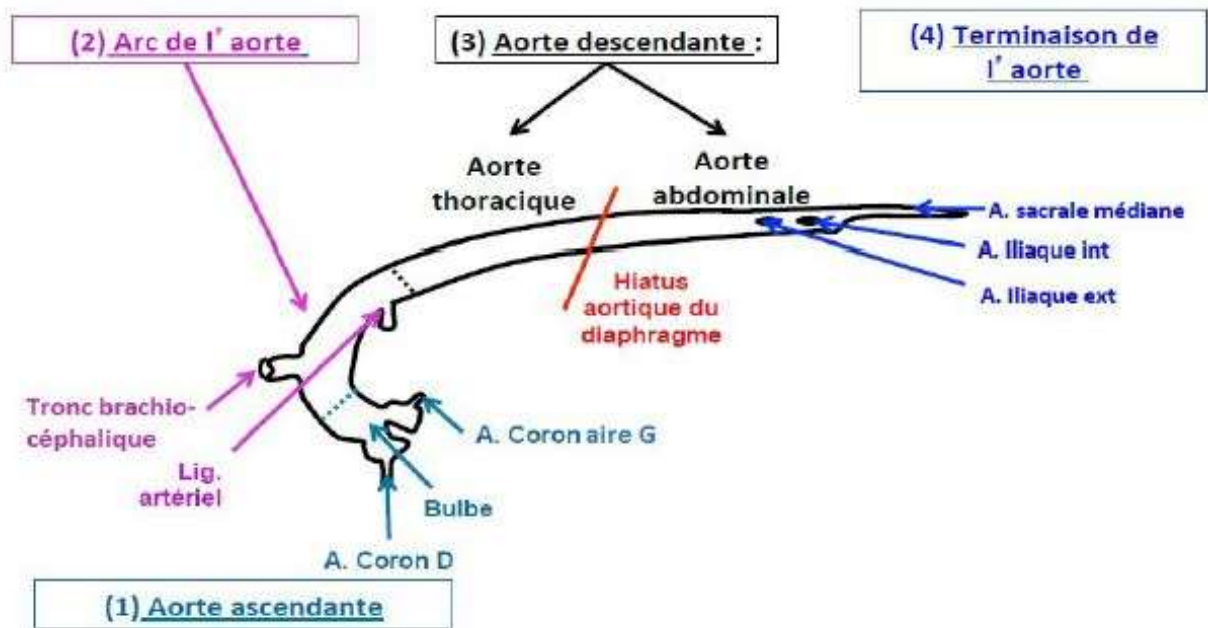


Figure 8: Schéma de l'anatomie des régions de l'aorte et des premières ramifications artérielles
Schéma dessiné par le professeur DEVIER.

Selon leur taille la constitution de la paroi artérielle varie. Les artères majeures sont riches en fibres élastiques (Figure 7). Cette constitution est adaptée à leur fonction, en effet les artères majeures sont proches du cœur et doivent pouvoir absorber la montée brutale de pression sanguine consécutive à la systole cardiaque. Sans cette élasticité les artères rompraient à chaque battement cardiaque. Les artères périphériques et les artérioles sont quant à elles moins riches en fibres élastiques et plus riches en cellules musculaires lisses (Figure 7). Pour les petites artères la LEI est toujours présente mais la LEE a disparue, tandis que pour les artérioles la réduction en fibres élastiques est telle que les deux limitantes ont disparues. Loin du cœur la différence de pression est moins marquée donc l'élasticité n'est plus nécessaire. Cependant ces artères participent à la régulation du flux sanguin dans les différents tissus, elles sont donc riches en tissu musculaire. Une contraction de ces cellules musculaires lisses entraîne une vasoconstriction qui augmente la résistance périphérie et diminue le débit sanguin, tandis qu'un relâchement de ces muscles provoque une vasodilatation qui diminue la résistance périphérique et qui entraîne une augmentation du débit sanguin (1.1.2.2). Les artères intermédiaires sont dites mixtes et contiennent autant de tissu élastique que de tissu musculaire. Pour ces artères les deux limitantes élastiques sont présentes. Une autre particularité des artères majeures est celle de posséder de petits vaisseaux dans leur adventice nommés vasa vasorum (Figure 7). Ces

vaisseaux permettent d'assurer un apport sanguin suffisant à toutes les cellules des artères majeures (KARDONG, 2015).

Cette organisation structurelle des artères reste quasiment inchangée chez les différents vertébrés. Ainsi tout ce qui vient d'être expliqué dans ce paragraphe est applicable de la même manière aux mammifères et aux oiseaux.

1.1.2.2/ Dynamique de la circulation sanguine

Le sang est un liquide complexe, en effet il est composé de deux phases mélangées : une phase liquide le plasma et une phase cellulaire avec les érythrocytes, les leucocytes et les thrombocytes. Dans les plus gros vaisseaux la taille des cellules est négligeable par rapport au diamètre du vaisseau, ainsi l'écoulement du sang dans ces vaisseaux sera semblable à de l'eau on parle de fluide newtonien. Dans les artérioles, cependant, la taille des globules rouges n'est plus négligeable. On peut considérer à cette échelle un liquide newtonien, le plasma, dans lequel des éléments solides, les globules rouges, sont en suspension. On parle de liquide plastique dont le comportement physique diffère du liquide newtonien (KLEIN, 2013).

Les courants qu'ils soient électriques, on parle d'intensité, ou fluides, on parle de débit, sont régis par la loi d'Ohm :

$$\text{Débit} = \frac{\Delta \text{Pression}}{\text{Résistance}}$$

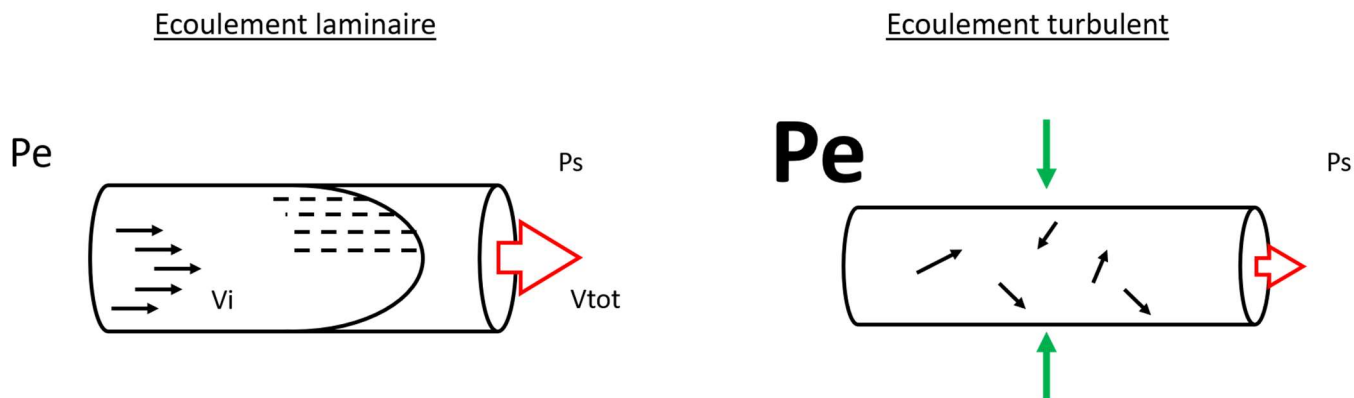
Avec Δ Pression qui correspond à la différence de pression en amont et en aval du tube et la résistance qui correspond à la résistance périphérique d'un tube (Figure 9). La résistance périphérique est inversement proportionnelle au diamètre du tube, comme le montre la loi de Poiseuille :

$$\text{Résistance d'un tube} = \frac{8\eta l}{\pi r^4}$$

Avec η la viscosité du liquide, l la longueur du tube et r son rayon. Ainsi on remarque que lorsque le rayon diminue la résistance augmente et si le cœur ne compense pas le débit diminue (KLEIN, 2013).

Dans les vaisseaux de grands calibres l'écoulement du sang peut se faire sous deux formes : l'écoulement laminaire ou l'écoulement turbulent. Dans l'écoulement laminaire les vecteurs vitesses qui entraînent le liquide sont parallèles au tuyau. L'écoulement du sang pourra s'apparenter à l'écoulement de plusieurs cylindres parallèles dont la vitesse est plus élevée au milieu qu'en périphérie (Figure 9). Si la différence de pression augmente ou si la résistance périphérique augmente, l'écoulement se modifie et devient turbulent. Le sang s'écoule toujours

dans la même direction mais les vecteurs vitesses sont dans tous les sens (Figure 9). L'écoulement est moins efficace et les forces de frottements contre la paroi augmentent. Cet écoulement turbulent est physiologique proche du cœur dans l'aorte ascendante. Il est pathologique lorsqu'il est consécutif à une réduction marquée du diamètre des vaisseaux, comme nous verrons dans le chapitre 2 pour l'athérosclérose.



Ps : pression de sortie

Pe : pression d'entrée

Figure 9 : Schéma des différents types d'écoulements sanguins. Les flèches noires représentent les vecteurs vitesses ponctuels. La flèche rouge représente la somme de ces vecteurs. Un écoulement laminaire peut devenir turbulent lorsque la différence de pression augmente ($Pe \gg Ps$) ou lorsque le diamètre des vaisseaux diminue (flèches vertes).

Schéma personnel dont les informations ont été tirées de KLEIN, Vertebrates : Comparative The systemic and pulmonary circulation extrait de Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology, Firth edition (KLEIN, 2013).

Dans les vaisseaux de plus petit calibre, comme le sang n'a pas le comportement d'un fluide newtonien, l'écoulement laminaire n'existe pas. L'écoulement du plasma entre les cellules se fait uniquement de manière turbulente.

(KLEIN, 2013)

Grâce au métabolisme des lipides, de l'anatomie des artères et de la physiologie de l'écoulement sanguin artériel nous allons pouvoir mieux comprendre dans la partie suivante les mécanismes pathologiques de la formation de la plaque athéromateuse puis de savoir quels sont les facteurs de risques et les facteurs favorisant l'apparition de la maladie.

Chapitre 2 : Les mécanismes de formation de la plaque athéromateuse et ses conséquences pathologiques

Les mécanismes pathologiques d'athérosclérose ont été décrits depuis plus d'un siècle par les pathologistes, mais surtout pour les phases les plus évoluées de la maladie. Des études plus récentes, tel que celles menées par le groupe de recherche PDAY (Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth), ont montré que les phases les plus précoces de la maladie n'avaient aucune expressions cliniques mais présentaient des lésions artérielles pouvant être considéré comme de l'athérosclérose (TOUSSAINT et al., 2003).

Dans l'ensemble de ce chapitre les mécanismes que nous présenterons ont été décrits chez l'homme ou chez des modèles expérimentaux animaux visant à mieux comprendre cette maladie chez l'homme.

1.2.1/ La pénétration, l'accumulation et l'oxydation des lipides dans l'intima des vaisseaux

La première étape à l'origine de la formation de la plaque athéromateuse, ou athérome, se caractérise par l'accumulation de LDL dans la matrice sous-endothéliale de l'intima des artères. Cette accumulation se fait de manière passive dépendant de la concentration sanguine en LDL (1) (Figure 10). Ainsi une hyperlipémie liée à une forte concentration de LDL peut être un précurseur d'athérosclérose. Une fois dans l'intima, les globules de LDL vont rester piégés. Les nombreuses fibres élastiques de la matrice, de par leur organisation tridimensionnelle, vont bloquer les LDL dans l'espace sous endothéliale qui ne pourront plus retourner dans la circulation (Nivelstein-Post et al., 1994). Un dosage des ApoB-100, apolipoprotéines caractéristiques des LDL, dans la paroi vasculaire montre que la concentration en Apo-B100 est plus élevée dans la paroi que dans le plasma. Ainsi on peut en déduire qu'il y a une plus grande quantité de LDL séquestrés que de LDL circulants et fonctionnels (Berliner et al., 1995). L'accumulation des LDL dans l'intima n'est pas homogène selon les vaisseaux et dépendrait des conditions hémodynamiques et de facteurs mécaniques. Les zones d'accumulation privilégiées ont été étudiées chez la souris mais il ne semble pas qu'il y ait qu'un seul type de flux favorisant l'accumulation de LDL. Les écoulements turbulents avec un faible gradient de vitesse, et les écoulements laminaires avec un fort ou un faible gradient de vitesse sont les trois types d'écoulements ou l'accumulation de LDL serait la plus importante (Mehrabian et al., 1991).

Le cholestérol des LDL accumulés est susceptible d'être oxydé par des enzymes comme : la myéloperoxydase, la lipoxigénase, la NADPH oxydase et la monoxyde d'azote synthétase. Ces enzymes sécrétées par les cellules épithéliales sont présentes dans l'intima (2) (Figure 10). Lors de l'oxydation des LDL des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) se forment. Les DRO sont des espèces chimiques oxygénées possédant un radical libre, des ions oxygénés ou des peroxydes. Cela les rend très réactives et donc cytotoxique. Les DRO provoquent un dysfonctionnement de l'endothélium, une inflammation et une augmentation de la perméabilité vasculaire (Wang, Butany, 2017). A ce niveau-là les LDL sont modérément oxydés, seuls les lipides sont modifiés, l'apoB-100 reste inchangée. On parle de « Mildly-Oxidized LDL » ou Mox-LDL. Nous verrons par la suite qu'il existe une deuxième étape d'oxydation des Mox-LDL en « Highly-Oxidized LDL » ou Hox-LDL (Berliner et al., 1995).

Les mécanismes de défenses de l'organisme sont capables de lutter contre les DRO. Les Mox-LDL vont entraîner un recrutement des leucocytes, qui est en temps normal inhibé par les cellules de l'endothélium vasculaire et démarrer l'étape suivante (Wang, Butany, 2017) (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.2/ Le recrutement des cellules inflammatoires

En temps normal l'endothélium est capable de maintenir une homéostasie vasculaire en sécrétant, entre-autre, du monoxyde d'azote (NO). En plus de son rôle vasodilatateur, le NO inhibe les phénomènes inflammatoires, prolifératifs et thrombotiques en perturbant notamment les interactions entre les leucocytes et les plaquettes. En s'oxydant les Mox-LDL entraînent le dysfonctionnement de l'endothélium qui diminue l'excrétion de NO et lève l'inhibition du phénomène inflammatoire (3) (Figure 10) (Wang, Butany, 2017). De plus la présence de Mox-LDL active la sécrétion par les cellules épithéliales de P-selectine, des protéines d'adhésions cellulaires, pouvant notamment lier les monocytes (LEHR et al., 1991). Les Mox-LDL peuvent aussi stimuler la production de VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule 1) et d'ICAM-1 (InterCellular Adhesion Molecule 1) qui, comme leur nom l'indique, sont des molécules d'adhésions (4) (Figure 10). Toutefois les mécanismes liant les Mox-LDL au VCAM-1 et ICAM-1 sont mal connus (Berliner et al., 1995). Le troisième et dernier effet des Mox-LDL est la stimulation des cellules épithéliales dans la production de molécules activant ou attirant les monocytes. Parmi ces molécules on retrouve : la « monocyte chemoattractant protein 1 » (MCP-1), la « monocyte colony stimulating factor » (M-CSF), et la « growth-regulation ongene » (GRO) (5) (Figure 10) (Berliner et al., 1995) (Wang, Butany, 2017). Les Mox-LDL

sont capables de stimuler la production de ces molécules en stimulant la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) à travers un mécanisme impliquant la protéine G. Une concentration élevée en AMPc va inhiber la production de l'« endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 » (ELAM-1) une E-selectine retenant les monocytes. La diminution en concentration d'ELAM-1 va entraîner l'augmentation en concentration des molécules d'adhésions et des molécules activant ou attirant les monocytes précédemment cités (Parhami et al., 1993). La MCP-1 peut aussi stimuler sa propre production (6) (Figure 10). Ainsi le phénomène d'attraction et de stimulation des monocytes sera auto-amplifié (CUSHING, FOGELMAN, 1992). Ces trois phénomènes concourent ainsi à attirer, en s'auto-amplifiant, les cellules inflammatoires, et particulièrement les monocytes, vers les zones d'accumulation de Mox-LDL dans l'intima (Figure 10).

Au contact des LDL les monocytes vont accentuer l'oxydation des Mox-LDL en Hox-LDL (Highly Oxidized LDL). Les Hox-LDL vont avoir leurs protéines ApoB-100 oxydées, en plus des lipides. Cette oxydation entraîne un changement spatial de la molécule qui n'est plus reconnu par les récepteurs classiques des LDL évoqués dans la partie 1.1.1.5 (Berliner et al., 1995). En parallèle les monocytes recrutés vont se convertir en macrophages sous la stimulation de la M-CSF. Cette même molécule va aussi stimuler la production par les macrophages de récepteurs éboueurs ou « scavenger ». Ces récepteurs vont être capables de reconnaître la nouvelle forme de l'apoB-100 oxydée et endocyter les Hox-LDL (7) (Figure 10). Cependant contrairement aux récepteurs classiques des LDL, les récepteurs éboueurs ne sont pas autorégulés par la concentration intracytoplasmique en cholestérol. Ainsi les macrophages vont pouvoir accumuler une quantité massive de cholestérol dans leur cytoplasme. L'aspect microscopique des macrophages change, leur cytoplasme prend un aspect mousseux qui va donner le nom de cellules spumeuses à ces macrophages surchargés en cholestérol. A l'échelle tissulaire les zones riches en cellules spumeuses sont visibles par des stries lipidiques au niveau de l'intima des artères (Photo 1). Cette lésion représente le premier stade macroscopique dans l'évolution de la plaque athéromateuse. A ce niveau les lésions sont encore réversibles, en effet chez l'homme avant l'âge de 25 ans ces lésions sont fréquentes dans l'aorte et peuvent disparaître secondairement ou évoluer en plaque fibreuse (HURST, 1987) (TOUSSAINT et al., 2003). De plus à ce stade lésionnel il n'y a aucun impact mécanique sur le calibre de l'artère (Berliner et al., 1995) (TOUSSAINT et al., 2003).

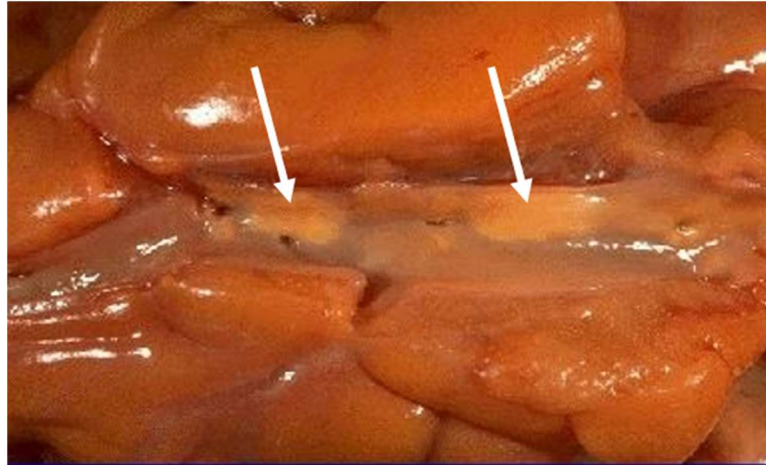


Photo 1 : Lésions de stries lipidiques au niveau d'une artère humaine (flèches blanches)

Image adaptée de <http://wwwf.imperial.ac.uk/~ajm8/BioFluids/Pictures/> et prise par le Professeur A. J. MESTEL

Les cellules spumeuses ne sont pas simplement des cellules stockant passivement du cholestérol, ce sont des macrophages produisant des interleukines pro-inflammatoires, et participant au recrutement de lymphocytes T et d'autres macrophages (8) (Figure 10). Parmi ces interleukines on retrouve l'IL-1 qui active la production de CAM (Cell Adhesion Molecule) ; l'IL-6 qui est impliquée dans l'angiogenèse, la revascularisation et dans l'induction de CRP (C-Reactive Protein) et de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire ; l'Il-12 qui active les lymphocytes T ; et la MCP-1. En plus de ces molécules pro-inflammatoires, les macrophages peuvent sécréter des métalloprotéinases de matrices qui peuvent fragiliser la matrice élastique et rendre la lésion plus instable (9) (Figure 10) (Berliner et al., 1995) (TOUSSAINT et al., 2003).

L'ensemble des mécanismes évoqués dans les paragraphes 1.2.1 et 1.2.2 ont été résumés dans la Figure 10.

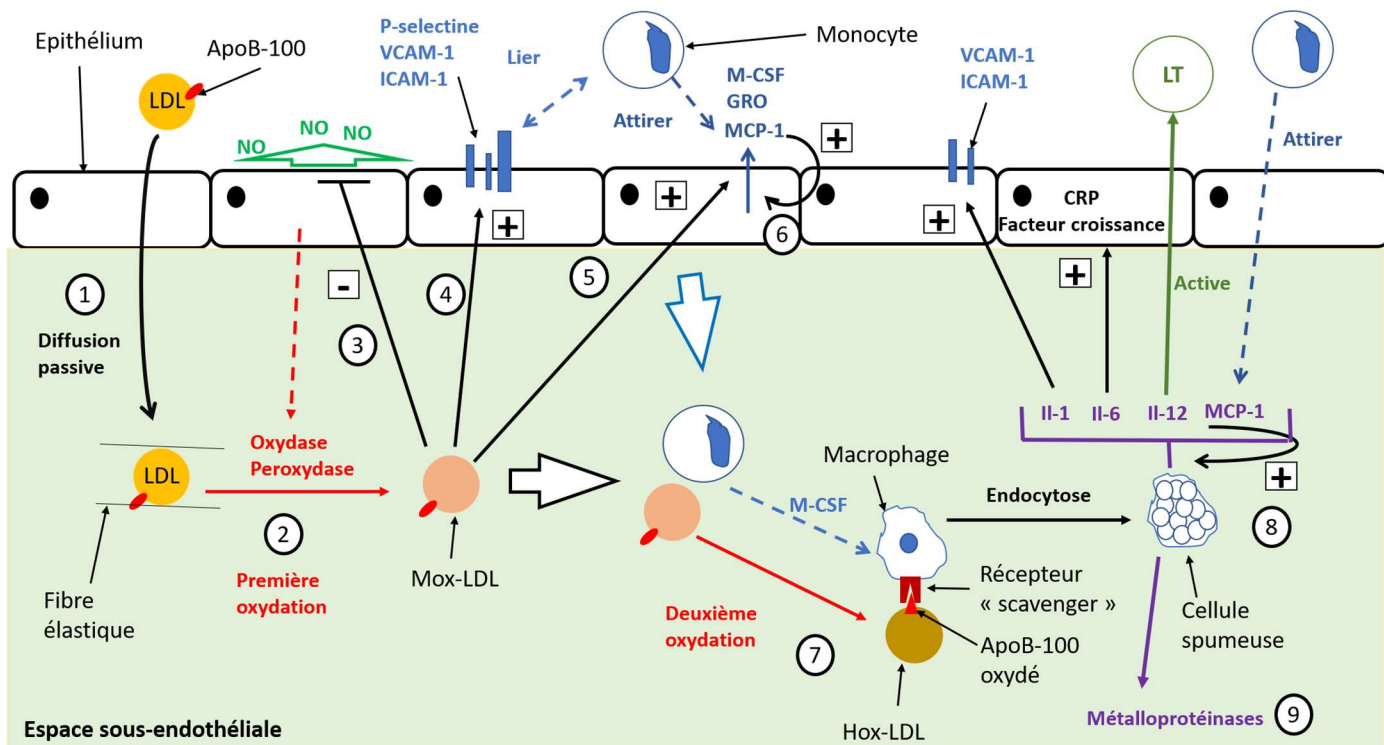


Figure 10: Schéma bilan de la diffusion des LDL, de leur oxydation et de la réaction inflammatoire consécutive
Schéma personnel

Sur une courte durée le recrutement inflammatoire a peu de conséquences. Si l'accumulation de LDL devient chronique alors la lésion de strie lipidique qui était jusque-là bénigne peut s'aggraver en chape fibreuse et devenir une lésion irréversible. Heureusement l'organisme possède des moyens de lutte contre cette accumulation, qui passent par les HDL.

1.2.3/ Le rôle protecteur des HDL

Le rôle protecteur des HDL a été mis en évidence à deux niveaux. Le premier rôle des HDL est le transport inverse du cholestérol des tissus, des VLDL et des chylomicrons vers le foie en vue de son élimination. En évitant les excès cellulaires et sanguins de cholestérol les HDL préviendraient les excès sanguins de LDL ce qui limiterait le phénomène de piégeage passif des LDL dans l'intima (Berliner et al., 1995). Le second rôle des HDL est celui d'antioxydant des LDL. En effet les HDL sont plus affines avec les enzymes d'oxydation de l'épithélium et s'oxyderaient à la place des LDL, ce qui réduirait la quantité de Mox-LDL (Navab et al., 1991).

Cependant les HDL oxydés ne seraient plus capables d'assurer le transport inverse du cholestérol et pourraient s'accumuler au même titre que les LDL dans l'espace sous-

endothéliale et dans les macrophages. Ainsi le rôle protecteur des HDL n'est pas si évident, il serait ambivalent (Berliner et al., 1995) (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.4/ La formation de la chape fibreuse, le stade lésionnel de la plaque athéromateuse vrai

Une accumulation importante de cellules spumeuses localement peut entraîner un phénomène inflammatoire intense qui peut faire évoluer macroscopiquement les lésions de stries lipidiques en plaque d'athérome.

En effet les cellules spumeuses sécrètent des molécules pro-inflammatoires attirant des monocytes et des lymphocytes T. Tant que des LDL oxydés sont présents dans la paroi la formation de cellules spumeuses continue et l'inflammation s'intensifie. En s'amplifiant le phénomène inflammatoire peut stimuler l'apparition de néovaisseaux autour de l'accumulation lipidique. De plus elle peut s'étendre jusqu'à la media des vaisseaux et affecter les cellules musculaires lisses. Sous l'action de l'inflammation les cellules musculaires lisses vont se différencier et migrer vers l'intima où elles ne sont pas présentes en temps normal. Parmi les molécules participant à la différenciation des cellules musculaires lisses et à leur recrutement on retrouve : des dérivés des facteurs de croissance des plaquettes (PDGF), des facteurs de croissance bêta transformés (TGF- β), des interférons gamma (INF γ), des facteurs de nécrose tumorale alpha (TNF α) et des facteurs de croissance fibroblastiques basiques (BFGF). Dans l'intima ces cellules musculaires lisses vont perdre leur pouvoir contractile et, pour une partie d'entre elles, se comporter comme des macrophages en phagocytant les LDL oxydés et en stimulant la sécrétion de marqueurs macrophagiques. Lors de la phagocytose ces cellules musculaires lisses peuvent aussi former des cellules spumeuses. Une autre partie des cellules musculaires lisses va avoir un rôle sécrétoire en formant une matrice extracellulaire protéique fibreuse (Wang, Butany, 2017) (TOUSSAINT et al., 2003). Cette matrice va être constituée principalement de collagènes, d'élastines et de protéoglycanes (BAUTERS, 2009). Cette matrice extra-cellulaire va former une chape fibreuse autour des cellules spumeuses qui vont former un cœur riche en lipide que l'on nomme « centre athéromateux » (Figure 11).

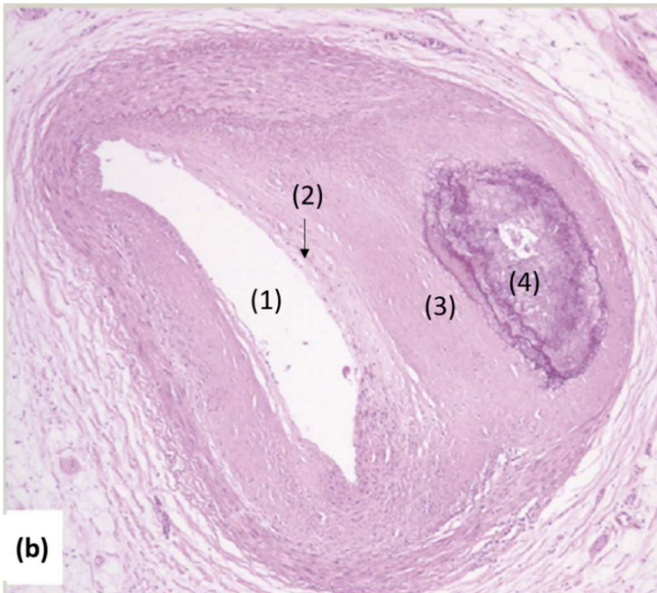
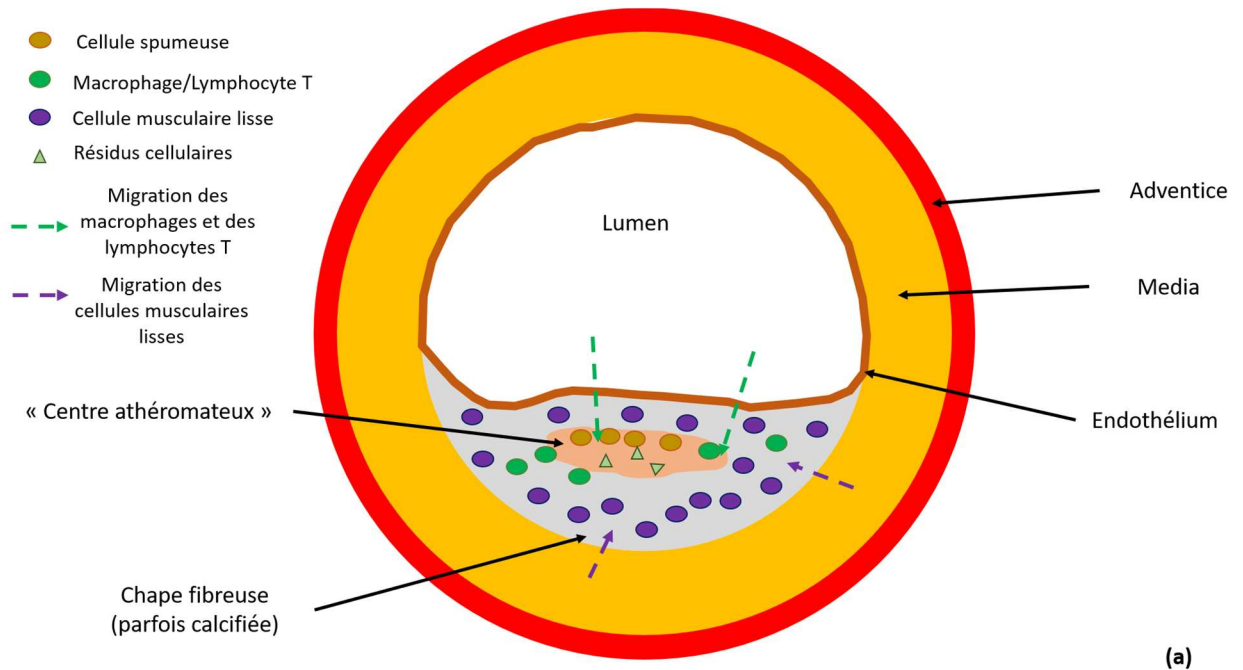


Figure 11: (a) Schémas d'une plaque athéromateuse "vrai" et des phénomènes à son origine
 Schéma personnel dont les informations ont été tirées de WANG et BUTANY, *Pathogenesis of Atherosclerosis* (Wang, Butany, 2017)

(b) Image microscopique colorée à l'hématoxyline et à l'éosine d'une plaque athéromateuse non compliquée, (1) lumière, (2) endothélium, (3) chape fibreuse, (4) « centre athéromateux ».

Schéma adapté de WANG et BUTANY, *Pathogenesis of Atherosclerosis* (Wang, Butany, 2017).

L'ensemble du « centre athéromateux » et de la chape fibreuse vont former le deuxième stade lésionnel que l'on nomme plaque athéromateuse ou athérome. A ce niveau la lésion est encore recouverte par l'épithélium (Figure 11).

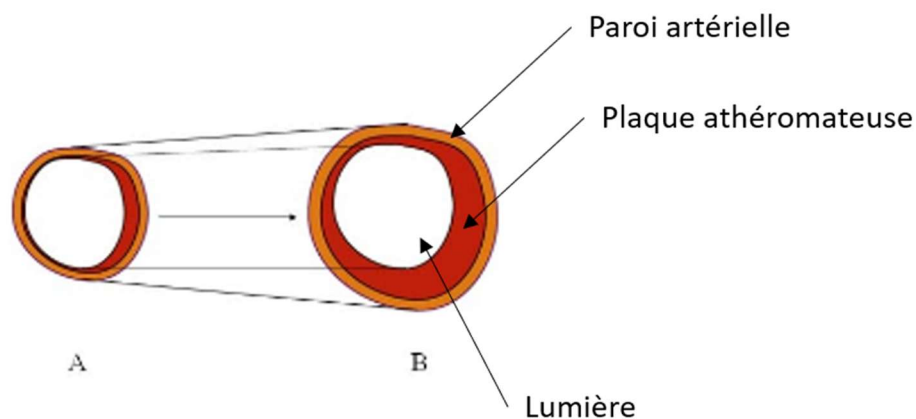


Figure 12: Schéma du phénomène de remodelage compensatoire. En une plaque athéromateuse modérée en A et une plaque plus sévère en B ; la lumière vasculaire reste inchangée car l'artère augmente de taille et assure un remodelage compensatoire.

Schéma adapté de BAUTERS ; Item 128 : Athérome : épidémiologie et physiopathologie. Le malade poly-athéromateux ; <http://campus.cerimes.fr/cardiologie-et-maladies-vasculaires/enseignement/cardiologie4/site/html/cours.pdf> (BAUTERS, 2009).

L'apparition de l'athérome est un processus de formation long, l'hyperlipémie à l'origine de la formation de la plaque doit être chronique pour arriver jusqu'à ce stade. Chez l'homme ce type de lésion apparaît habituellement après l'âge de 40 ans (TOUSSAINT et al., 2003). La stabilité de la lésion est telle que la possibilité de réversibilité est rare et lorsque la lésion est réversible cela peut prendre plusieurs années jusqu'à ce que les lésions disparaissent (A) (Figure 13) (HURST, 1987).

Avec le remodelage compensatoire, l'individu atteints d'une plaque athéromateuse exprime rarement des signes cliniques. Lorsque l'atteinte est sévère, ou lors d'atteinte d'artères de petit calibre, des signes cliniques à l'effort ou au repos peuvent apparaître. La plupart des manifestations cliniques apparaissent lorsque la plaque athéromateuse, qui était jusqu'alors stable, dégénère en thrombus, en sténose, en anévrisme, en embolie, en occlusion ou en ulcère ; mais ce n'est pas constant. Cette aggravation est la plupart du temps mortelle pour le sujet atteint et s'exprime soit sous forme de mort subite ou sous forme d'une mort précédée de manifestation clinique (TOUSSAINT et al., 2003). La composition de la plaque est déterminante dans la probabilité de dégénérescence. En effet les plaques dont la chape fibreuse est importante avec un « centre athéromateux » réduit sont stables et ont peu de chance de dégénérer. A l'inverse, les plaques dont le cœur lipidique est développé et la chape fibreuse

réduite sont moins stables et ont plus de chances de dégénérer. Les plaques calcifiées sont plus rigides, de ce fait elles peuvent plus facilement rompre ce qui favorise l'apparition de certains types de complications comme le thrombus ou l'embolie (BAUTERS, 2009) (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.5/ Dégénération clinique de la plaque d'athérosclérose

L'évolution de la plaque fibreuse est très difficile à prévoir et ne dépend pas de la taille de la plaque d'athérosclérose mais plutôt de sa composition et de l'épaisseur de sa chape fibreuse. La plupart des complications sont consécutives à une rupture de la plaque et entraînent des accidents vasculaires aigus. Chez l'homme ces complications arrivent rarement avant l'âge de 40 ans. L'exemple le plus fréquent d'accident vasculaire consécutif à l'athérosclérose est la thrombose. D'autres complications fréquentes existent comme la sténose, l'embolie, l'anévrisme ou l'ulcération (TOUSSAINT et al., 2003).

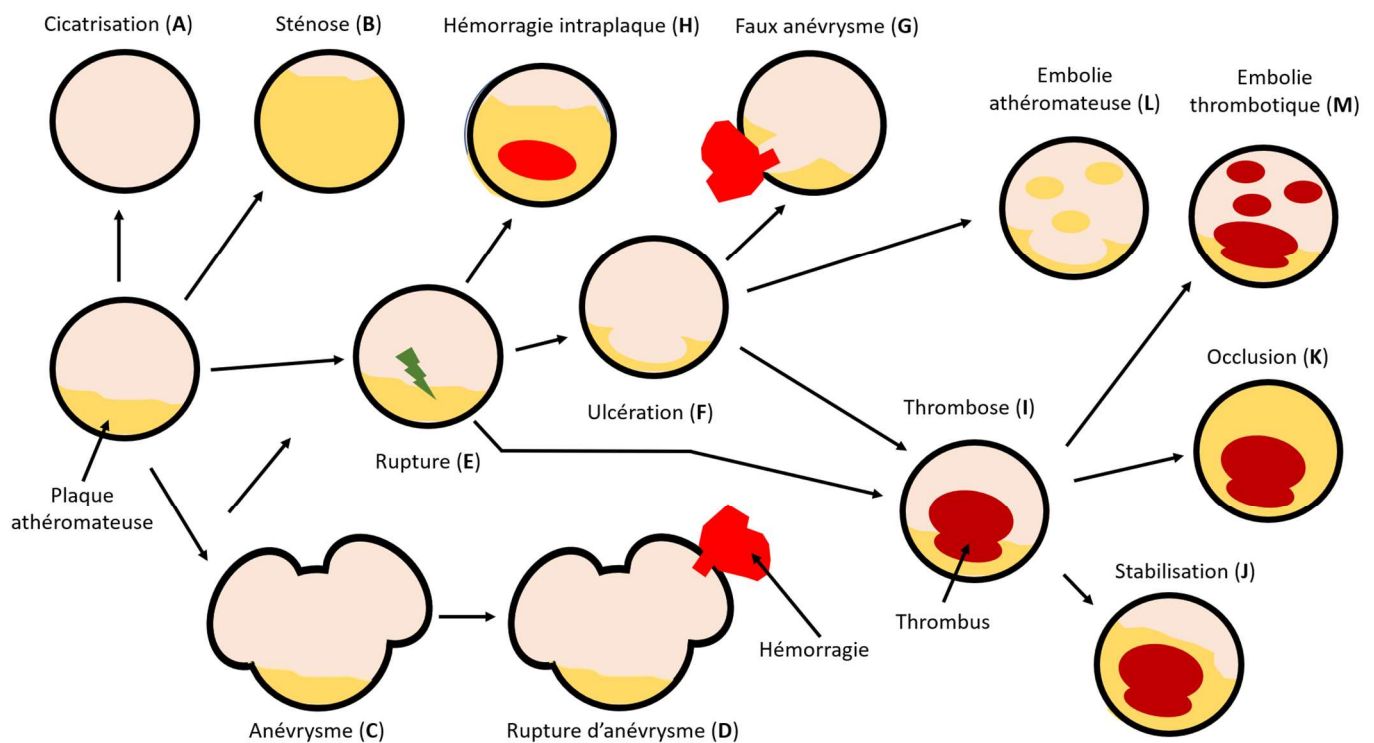


Figure 13: Schéma des différentes complications d'une plaque d'athérosclérose

Schéma personnel adapté de J.-F. TOUSSAINT, L'athérosclérose : Physiologie, diagnostics, thérapeutiques (TOUSSAINT et al., 2003) et de A. BRUNET, Athérosclérose aviaire et contribution à son étude chez les falconiformes (BRUNET, 2012).

1.2.5.1/ La sténose

La sténose se définit par l'obstruction partielle de la lumière artérielle (B) (Figure 13). La sténose apparaît lorsque le remodelage compensatoire est dépassé par le développement progressif de la plaque athéromateuse. On considère que lorsque la plaque dépasse 40% de la surface interne de l'artère, l'atteinte est sévère et la compensation n'est plus possible. Ainsi, si l'artère résiste à la pression sanguine, le diamètre de la lumière va diminuer et la résistance de l'artère va augmenter, ce qui entraîne une baisse de vitesse du flux sanguin. De plus lors d'une diminution du diamètre un flux laminaire peut se convertir en flux turbulent et ralentir d'autant plus la vitesse de circulation. Cela entraîne des défauts de perfusions qui peuvent avoir différentes conséquences cliniques selon la localisation. Les signes cliniques sévères apparaissent lorsque la lumière est réduite de plus de 75% (Virmani et al., 2000). Chez l'homme les principaux sites de sténoses consécutives à l'athérosclérose sont :

- Dans l'artère carotide interne cervicale, elle est majoritairement asymptomatique mais peut entraîner un infarctus cérébral dans 10% des cas.
- Dans l'artère sous-clavière, l'artère vertébrale extracrânienne ou dans les artères intracrâniennes, elles sont rares et peuvent aussi entraîner des infarctus cérébraux.
- Dans l'artère rénale, et peut entraîner une insuffisance rénale aggravée.

(TOUSSAINT et al., 2003)

1.2.5.2/ L'anévrisme et la rupture d'anévrisme

L'anévrisme est une dilatation de l'artère non parallèle accompagnée d'un remodelage de la paroi avec un amincissement ou une disparition de la media (C) (Figure 13). Les cellules musculaires disparaissent et sont remplacées par de la fibrose. Elle apparaît lorsque la plaque augmente de taille et que l'artère ne résiste pas à la pression sanguine (TOUSSAINT et al., 2003). L'anévrisme est dans la plupart des cas fusiforme, c'est-à-dire que la déformation est à peu près symétrique radialement (en opposition avec les anévrismes sacciformes qui sont asymétriques). L'anévrisme est auto-aggravant, plus le volume augmente, plus la tension sur la paroi augmente pour une même pression et plus la paroi se déforme (DENIS, 1996). L'anévrisme par effet de masse peut comprimer les organes alentours et notamment entraîner de fortes douleurs si elle comprime un nerf (TOUSSAINT et al., 2003).

La principale aggravation d'un anévrisme est la rupture (D) (Figure 13). En effet la paroi fibrosée est fragilisée et l'augmentation de volume augmente la tension. Si l'anévrisme dépasse 7 cm le risque de rupture est estimé à 82%. La rupture d'anévrisme entraîne une douleur aiguë

et une hémorragie intense qui peuvent amener l'individu rapidement vers la mort (DENIS, 1996).

Les anévrismes liés à l'athérosclérose apparaissent principalement dans les artères élastiques, c'est à dire dans l'aorte abdominale, les artères iliaques et plus rarement dans les artères poplitées. Ces anévrismes sont la plupart du temps accompagnés d'une plaque d'athérosclérose compliquée par une ulcération ou une thrombose (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.5.3/ L'ulcération

Contrairement aux sténoses, aux anévrismes et aux hémorragies cette complication apparait brutalement par rupture de la plaque d'athérosclérose. Les plaques au « centre athéromateux » développées, celles riches en macrophages pouvant dégrader la matrice extracellulaire, celles avec une chape fibreuse réduite, celle calcifiées et celles localisées dans une zone où le gradient de vitesse du sang est élevé sont autant de plaques ayant un risque élevé de ruptures.

La rupture entraîne une perte de substance à la surface de la plaque qui amène une ulcération (E,F) (Figure 13). Cette ulcération peut être plus ou moins étendue en étant visible macroscopiquement ou seulement repérable au microscope. De plus sa profondeur varie, l'ulcération est parfois superficielle mais elle peut atteindre le centre lipidique, voir l'intégralité de la plaque pouvant perforer l'artère. Lors de la perforation les conséquences vont être semblable à la rupture d'anévrisme on parle alors de faux anévrisme (G) (Figure 13). L'ulcération peut amener une autre complication majeure de l'athérosclérose la thrombose, principalement dans les secteurs carotidiens (TOUSSAINT et al., 2003) (Berliner et al., 1995).

1.2.5.4/ Les hémorragies intraplaques

Une autre complication fréquente des plaques d'athérosclérose est l'hémorragie intraplaque. Elle consiste en une collection sanguine dans la plaque et notamment dans le centre lipidique aboutissant à une augmentation rapide du volume de la plaque (H) (Figure 13). Le sang proviendrait soit de la lumière directement, profitant d'une rupture pour s'accumuler, soit de la rupture de néovaisseaux sous l'effet des contraintes hémodynamiques. Par la suite cette hémorragie peut subir l'effet des macrophages qui vont amener une organisation conjonctive suivi de la synthèse d'une matrice extracellulaire. Les hémorragies vont principalement avoir des conséquences cliniques lors d'atteintes de plaques dans le secteur carotidien. Ces

conséquences vont être semblable à la sténose en entraînant des infarctus cérébraux suivis d'une mort subite (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.5.5/ Les thromboses et les occlusions

La thrombose survient lors d'une rupture, d'une érosion ou d'une ulcération de la plaque athéromateuse (E,F,I) (Figure 13). La thrombose survient sur des plaques qui ne sont pas nécessairement volumineuses mais qui sont instables. L'instabilité amène à une perte de l'endothélium et une rupture ou d'une érosion de la chape fibreuse. Lors de rupture, le cœur lipidique est mis en contact avec la lumière de l'artère et les résidus pro-thrombotiques issus de l'apoptose des macrophages et des lymphocytes T vont déclencher un phénomène pro-inflammatoire. En effet en l'absence de cellules épithéliales la propriété d'anticoagulation va être levée et la libération des résidus apoptotiques va stimuler l'agrégation plaquettaire puis la cascade de la coagulation. Ces phénomènes vont former un caillot sanguin intra-artériel que l'on nomme thrombus (I) (Figure 13). La photo 2 représente une vue microscopique d'un thrombus sur une plaque athéromateuse instable riche en lipides (Photo 2). Dans 40% des cas des thrombus apparaissent sans ruptures de la chape fibreuse mais seulement avec une érosion de l'endothélium. Même en l'absence de libération du contenu prothrombotique du « centre athéromateux », l'inflammation serait suffisante pour entraîner l'agrégation plaquettaire et la coagulation (TOUSSAINT et al., 2003).

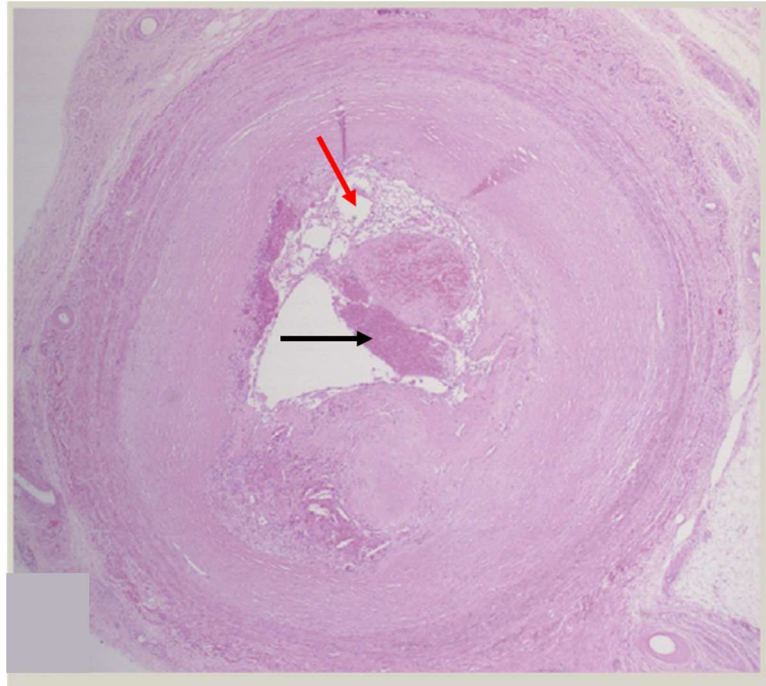


Photo 2: Image microscopique colorée à l'hématoxyline et à l'éosine d'une plaque athéromateuse instable riche en lipides (flèche rouge) accompagnée d'un thrombus non oblitérant (flèche noire).

Schéma adapté de WANG et BUTANY, Pathogenesis of Atherosclerosis (Wang, Butany, 2017).

Dans le meilleur des cas, le thrombus peut être mural, c'est-à-dire pariétal et non occlusif. Dans ce cas le thrombus va être visible macroscopiquement sous la forme d'un matériel noirâtre remplissant une zone ulcérée (Photo 3). Dans ce cas les macrophages vont coloniser le thrombus, cela entraîne une détersion de la fibrine et des cellules immobilisés dans le coagula. A l'image de la formation de la plaque athéromateuse, les macrophages vont stimuler la formation de néovaisseaux et la migration de cellules musculaires qui vont sécréter une matrice extracellulaire protéique et stabiliser le thrombus dans la plaque (J) (Figure 13). Cette stabilisation de la plaque amène une progression de la plaque, toutefois elle diminue le risque d'embolie du thrombus. Dans les cas les plus sévères le thrombus peut occuper la totalité de la lumière et être occlusif (K) (Figure 13). Ces occlusions se font surtout dans les artères de moyen calibre et exceptionnellement dans l'aorte (TOUSSAINT et al., 2003).



Photo 3 : Vue macroscopique d'un thrombus murale, peu volumineux, sur le bulbe carotidien (flèche)

Photo extraite de J.-F. TOUSSAINT, L'athérosclérose : Physiologie, diagnostics, thérapeutiques (TOUSSAINT et al., 2003).

La thrombose, qu'elle soit occlusive ou non, rends la plaque brutalement symptomatique. Des accidents vasculaires aigus peuvent apparaître tel que l'angor instable, c'est-à-dire une douleur aiguë consécutive à l'obstruction d'une artère coronaire (DENIS, 1996), qui peut lui-même s'aggraver en infarctus ou en mort subite coronaire (TOUSSAINT et al., 2003).

Les thrombus peuvent aussi amener des complications à distance du lieu de la formation de la plaque en provoquant des embolies (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.5.6/ Les embolies

Une embolie est une obstruction brutale d'un vaisseau dut à un corps étranger. Dans les cas d'athérosclérose l'embolie peut provenir soit du thrombus soit de la plaque elle-même (TOUSSAINT et al., 2003).

Lors d'embolie thrombotique tout ou partie du thrombus migre dans les artères de petit et de moyen calibre (M) (Figure 13). La plaque emboligène siège sur les artères de gros calibres comme l'aorte ou les artères iliaques primitives. Les plaques les plus incriminées dans des embolies thrombotiques sont les plaques instables, non calcifiées et avec un thrombus volumineux de structure pédiculé. L'embolie thrombotique s'immobilise dans les artères de moyen et surtout de petit calibre et les oblitèrent entièrement ou partiellement. Lors d'oblitération partielle, l'embolie subit secondairement un processus de remaniement conjonctif. Selon la localisation de l'obstruction de l'embolie peut être plus ou moins grave, en entraînant

des infarctus ou simplement des défauts de perfusions. Les défauts de perfusions de membres inférieurs dus à un embolie thrombotique d'origine aorto-iliaque sont bien décrits chez l'homme. De plus les embolies thrombotiques de l'aorte thoracique sont à l'origine d'embolies encéphaliques pouvant être responsables d'un accident vasculaire cérébral (TOUSSAINT et al., 2003). Les thrombus, les obstructions thrombotiques et les embolies thrombotiques sont la première cause de mort par athérosclérose chez l'homme (Beaufrere, 2013).

Le second type d'embolie est l'embolie athéromateuse ou dit « de cholestérol » et proviendrait d'une plaque ulcérée (L) (Figure 13). Tout ou partie de la plaque peut migrer dans une artère de petit calibre ou dans la microcirculation, c'est-à-dire les artérioles et les capillaires. L'occlusion de la lumière se fait par des cristaux de cholestérol du centre lipidique associé à des cellules géantes et de la fibrine. La réaction inflammatoire de ce type d'embolie peut s'étendre localement à la paroi et provoquer une vascularite localisée au niveau de l'embolie. Tous les organes peuvent être touchés, mais la peau, le tube digestif et le rein sont les plus atteints. Comme dans les embolies thrombotiques selon sa localisation l'embolie athéromateuse peut provoquer un défaut de perfusion voire un infarctus. Ces embolies sont extrêmement fréquentes, en effet les embolies « de cholestérol » sont présentes chez 15% des sujets décédés à la suite d'une maladie vasculaire athéroscléreuse. Les facteurs favorisant l'embolie athéromateuse sont la prise de traitement anti-coagulants à base d'anti-vitamine K ou d'héparine, les chirurgies aortiques, le cathétérisme aortique ou la réalisation d'angiographies (TOUSSAINT et al., 2003).

1.2.6/ Classification histologique des lésions d'athérosclérose

L'*American Heart Association* (AHA) dans le cadre du *Committee on Vascular Lesions of the Council of Arteriosclerosis* a établie chez l'homme une classification histologique se fondant sur la séquence pathologique de formation précédemment évoquée. La classification de l'AHA reconnaît six types lésionnels différents successifs séparés en deux groupes : les lésions précoces (Types I, II et III) et les lésions avancées (Types IV, V et VI) (Tableau 2). Seuls les lésions avancées sont considérées comme des lésions d'athéroscléroses pathologiques, les lésions précoces sont considérées comme étant un terrain favorable à l'apparition d'athérosclérose pathologique (TOUSSAINT et al., 2003).

Le type I correspond à la lésion initiale et se caractérise par la présence de cellules spumeuses isolées non organisées en stries lipidiques. Cette lésion n'est détectable qu'à l'examen microscopique. Elle apparaît précocement, avant l'âge de 10 ans.

Lorsque ces cellules s'accumulent en plus grands nombres et deviennent visible macroscopiquement sous la forme de stries lipidiques la lésion est classée dans le type II. Le type II est précoce et a la même prévalence selon l'âge que le type I. Les types I et II confondus, chez l'homme, atteindraient 50% des sujets la première année de vie pour ensuite décroître pendant l'enfance puis augmenter de nouveau après 10 ans vers la puberté pour toucher deux tiers de la population entre 10 et 15 ans.

Le type III est une lésion de strie lipidique accompagnée d'un début d'accumulation lipidique extracellulaire due à l'apoptose des cellules spumeuses. Ce stade est plus tardif et apparaît après l'âge de 20 ans chez l'homme. L'ensemble des trois premiers stades sont réversibles.

La première lésion avancée est la lésion de type IV et correspond à l'accumulation focale de lipides formant le « centre athéromateux ». A ce stade l'ensemble n'est pas entouré d'une réaction fibreuse. Cette lésion est longue à se mettre en place et apparaît tardivement. Chez l'homme les premières lésions apparaissent après l'âge de 15 ans et la majorité apparaissent après 40 ans.

Lorsque la chape fibreuse se met en place autour du centre lipidique la lésion atteint le type V de fibro-athérome. Ce grade est divisé en trois sous-groupes dépendant de la composition de la plaque. Le groupe Va correspond aux plaques avec un centre lipidique développé, le groupe Vb correspond aux plaques calcifiées et le groupe Vc aux plaques dont le centre est réduit voir absent. Ces sous-groupes vont avoir un rôle prédictif dans la survenue de complications. En effet, comme on a vu précédemment, le risque d'apparition de complication dépend de la composition des plaques. Ces lésions sont tardives et apparaissent chez l'homme après 40 ans.

Tableau 2 : Classification histologique des lésions d'athérosclérose chez l'homme selon l'AHA, et séquence d'évolution des différents types. Une double flèche signifie une réversibilité aisée tandis qu'une flèche en pointillée signifie que la réversibilité est rare et longue.

Type de lésion	Caractéristiques lésionnelles	Corrélations cliniques	Séquence d'évolution
Lésions précoces :			
Type I	Macrophages spumeux isolés	Absence complète de manifestation clinique	
Type II	Stries lipidiques : macrophages et quelques cellules musculaires lisses spumeuses	Aucune manifestation clinique	
Type III	Stries lipidiques à laquelle se rajoute une légère accumulation de lipides extracellulaires	Aucune manifestation clinique	
Lésions avancées :			
Type IV	Athérome : formation d'un centre lipidique sans fibrose	Manifestations cliniques possibles	
Type V	Fibro-athérome Va : centre lipidique avec chape fibreuse Vb : Fibro-athérome calcifié Vc : plaque d'athérosclérose fibreuse avec un centre lipidique réduit voir absent	Manifestations cliniques possibles dépendant du degré de sténose	
Type VI	Athérosclérose compliquée VIa : ulcération VIb : hématome ou hémorragie intraplaque VIc : thrombose	Manifestations cliniques possibles : fréquentes mais pas constantes	

Tableau élaboré à partir de J.-F. TOUSSAINT, *L'athérosclérose : Physiologie, diagnostics, thérapeutiques* (TOUSSAINT et al., 2003) et H ; STARY *Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions* (Stary, 2000).

Les lésions de type VI correspondent aux complications de la lésion d'athérosclérose. Ce type se divise aussi en trois sous-groupes. Le groupe VIa correspond aux complications d'ulcérations, le groupe VIb aux hématomes et aux hémorragies intraplaques et le groupe VIc aux thromboses. Ces complications ont déjà été évoquées et elles sont distinguées dans cette classification car leurs conséquences vont être différentes. Elles proviennent soit d'une lésion de type IV ou de type V et sont réversibles en cas de cicatrisation de la complication. Ces complications apparaissent brutalement et affectent ainsi des individus où une lésion avancée non compliquée existe déjà, soit chez l'homme les individus de plus de 40 ans. (TOUSSAINT et al., 2003)

Pour les lésions avancées de type IV et V la réversibilité est possible, mais elle est rare et longue. Ainsi le classement de l'AHA considère que ces lésions sont irréversibles (Stary, 2000).

Ce classement a ses limites, en effet il ne prend pas en compte les lésions de complications n'affectant pas directement la plaque, comme les anévrysmes affectant localement la média ou les embolies qui entraînent des complications à distances. Cependant il reste un bon outil de caractérisation de la lésion et de son évolution (TOUSSAINT et al., 2003).

Chapitre 3 : Présentation clinique, examens complémentaires et traitements de l'athérosclérose chez l'homme

Nous allons nous intéresser dans cette partie à l'aspect pratique de l'athérosclérose chez l'homme à travers sa présentation clinique, les examens complémentaires existant et les traitements. Nous mettrons l'accent sur les aspects de diagnostics biochimiques et l'étude des facteurs de risques qui ont bien été exploités dans l'étude expérimentale.

1.3.1/ Le tableaux cliniques

Comme évoqué précédemment l'apparition des signes cliniques d'athérosclérose est liée aux plaques de types V, plus rarement aux plaques de type IV, mais surtout elle est liée aux complications locales ou à distance de la plaque. Parmi les formes cliniques liées à l'athérosclérose nous pouvons citer de manière non exhaustive : l'insuffisance coronaire aiguë, l'angor instable, l'infarctus du myocarde, les accidents ischémiques cérébraux, l'insuffisance rénale consécutive à une sténose athéroscléreuse des artères rénales et les artérites des membres inférieurs. Ces présentations cliniques ont pour point commun d'être d'apparition aiguë à

suraiguë et d'être très handicapantes voire mortelle pour la plupart d'entre elles (TOUSSAINT et al., 2003).

1.3.2/ Les examens complémentaires à valeur diagnostic et l'implication de la biochimie

Le diagnostic devra ainsi pouvoir détecter le plus précocement possible les lésions évoquées précédemment et identifier celles qui sont le plus à risques afin d'anticiper une complication mortelle. Les examens d'imageries sont des examens de choix pour investiguer une lésion d'athérosclérose. L'angiographie, radiographie des vaisseaux à l'aide d'un produit de contraste, l'échographie et l'Imagerie par Résonance Magnétiques (IRM) sont les trois outils de diagnostic d'imagerie majeurs. Ces méthodes sont peu invasives, hormis l'angiographie qui peut entraîner des embolies (1.2.5.6). Elles permettent de bien estimer la sténose due à la plaque d'athérosclérose. Toutefois ces outils ont leurs limites dans l'anticipation des complications de plaque. En effet, comme on l'a évoqué, ce n'est pas tant la taille mais la composition de la plaque qui a une valeur pronostic dans le risque de complication. A titre d'exemple, l'échographie détecte seulement 35% des plaques ulcérées (Ge et al., 1999) (Rioul et al., 2002). Or parmi ces trois outils seul l'IRM est suffisamment précise pour estimer la taille du centre lipidique de la plaque et ainsi avoir une idée sur le risque de complication (TOUSSAINT et al., 2003).

En plus des examens d'imagerie, des dosages sanguins peuvent être réalisés chez l'homme pour estimer le risque d'athérosclérose. Il est bien établi que les dyslipémies sont des terrains favorisant l'athérosclérose. En effet une hypercholestérolémie augmente le risque d'apparition d'athérosclérose. Toutefois il ne faut pas oublier que l'athérosclérose est avant tout une maladie inflammatoire d'apparition chronique. Ainsi l'outil de la biochimie ne nous permet pas d'avoir un diagnostic de confirmation mais permet d'identifier un terrain favorable à l'apparition d'athérosclérose. De plus selon la manière dont le cholestérol est véhiculé, l'hypercholestérolémie n'a pas la même valeur diagnostique. Comme on l'a vu les HDL jouent un rôle limitant l'apparition de la plaque. Ainsi une hypercholestérolémie avec un taux de HDL élevé sera plus favorable qu'une hypercholestérolémie avec un taux de LDL élevé (TOUSSAINT et al., 2003).

Le tableau suivant présente les taux normaux, chez l'homme, du cholestérol, des triglycérides et des transporteurs lipidiques sanguins :

Tableau 3 : Les taux normaux des métabolites lipidiques chez l'homme

Cholestérol	< 2 g/L
Triglycérides	< 1,25 g/L
VLDL	< 0,25 g/L
HDL	> 0,45 g/L
LDL	< 1,35 g/L

Tableau élaboré à partir de B. DENIS, *Sémiologie et pathologie cardiovasculaires* (DENIS, 1996)

L'ensemble des dyslipémies à l'origine d'athérosclérose peuvent être ordonnées dans la classification de Fredrickson qui reconnaît six types de dyslipémie :

- Le type I : correspond à une hyperchylomicronémie. Au diagnostic biochimique les triglycérides sont supérieurs à 5g/L, le cholestérol est normal voir peu augmenté, les HDL, les VLDL et les LDL sont diminués.
 - Le type II a : correspond à l'hypercholestérolémie familiale et correspond à une mutation génétique qui ne code plus le récepteur des ApoB des LDL. Au diagnostic biochimique le cholestérol est supérieur à 3.5 g/L et les triglycérides sont normaux.
 - Le type II b : correspond à la dyslipémie mixte, c'est la dyslipémie la plus fréquente et la plus athérogène. Au diagnostic biochimique le cholestérol est augmenté entre 2,5 et 3,5 g/L, les LDL sont augmentés au-delà de 1,6 g/L, les triglycérides sont augmentés entre 1,5 et 5 g/L et les HDL sont diminués.
 - Le type III : correspond à une accumulation de rémanent de LDL, il est très athérogène. Au diagnostic le cholestérol et les triglycérides sont augmentés de manière identique.
 - Le type IV : correspond à une hypertriglycémie endogène, qui se traduit par une augmentation des VLDL (surproduits par le foie) et indirectement une baisse des HDL.
 - Le type V : correspond au type I associé au type IV. Il est très rare.
- (DENIS, 1996) (Fruchart, Sézille, 1979)

Ainsi l'ensemble de ces dyslipémies permettent d'identifier des terrains favorables à l'athérosclérose. Cependant la complexité des interactions est telle que même ce classement a ses limites diagnostiques. En effet les LDL peuvent se diviser en plusieurs groupes plus ou moins riches en lipides et ayant un potentiel d'oxydation plus ou moins élevé (TOUSSAINT et al., 2003). Or ce sont les LDL oxydés (voir certain HDL) qui sont à l'origine de l'athérosclérose. Le classement de Fredrickson est limité dans le sens où aucunes mentions de mesure de

transporteurs oxydés n'est faite. Des tentatives de dosage des LDL oxydés ont été faites mais ces méthodes ont elles aussi leurs limites. La première est que la quantité de LDL oxydés dans le sang ne représente pas la quantité de LDL oxydés dans l'intima des vaisseaux. La seconde limite est le coût, en effet ces méthodes sont complexes et coûteuses. A titre d'exemple la méthode la moins complexe nécessite l'acquisition d'un spectrophotomètre (Jialal, Devaraj, 1996).

Au bilan, l'examen biochimique des métabolites lipidiques a l'avantage d'être un examen simple et accessible mais son apport diagnostique est limité. Au mieux lors de dyslipémies le praticien pourra conclure qu'il y a un risque accru d'apparition d'athérosclérose mais ne pourra pas confirmer son existence.

1.3.3/ Les traitements

Lors de complications avérées de plaques d'athérosclérose des traitements chirurgicaux sont possibles. Lors d'infarctus du myocarde une chirurgie coronaire est possible. On peut aussi réaliser des chirurgies carotidiennes lors d'infarctus cérébraux. Ces interventions sont lourdes et arrivent tard, sur des stades d'athéroscléroses compliqués (TOUSSAINT et al., 2003).

Des traitements médicamenteux préventifs de l'athérosclérose existent. Les traitements les plus connus sont les molécules de la famille des statines. Ce sont des inhibiteurs compétitifs de l'HMG-CoA réductase une enzyme impliquée dans la synthèse du mévalonate. Ainsi les statines sont hypocholestérolémiantes en réduisant la synthèse de cholestérol par l'organisme (TOUSSAINT et al., 2003). Toutefois cette molécule n'est pas le remède miracle de l'athérosclérose, tel que cela a été vanté dans les années 90 où « 40 millions de personnes à travers le monde se verraient prescrire des statines » (Drouelle 2018). Cependant, si les apports exogènes de cholestérol dépassent le besoin de l'organisme, cela ne réduira en rien les apports exogènes de cholestérol et la synthèse de cholestérol sera déjà inhibé par le cholestérol intracellulaire, ainsi l'impact des statines sera anecdotique. De plus de nombreux effets secondaires leur seraient prêtés tel que des douleurs musculaires ou des pertes de mémoires (Drouelle 2018).

De manière générale il n'est pas envisageable pour les praticiens d'envisager un traitement efficace de l'athérosclérose sans analyser et tenter de régler les facteurs favorisants en amont notamment s'ils sont liés à l'hygiène de vie.

1.3.4/ Facteurs favorisant

Tout facteur ayant une influence sur une étape de la pathogenèse pourra être considéré comme un facteur favorisant. Ces facteurs sont divers, ils peuvent impacter la lipémie, l'oxydation des LDL, la réaction inflammatoire ou l'adaptation des vaisseaux aux lésions. Nous nous attarderons plus en détail sur les facteurs de risques de l'homme transposables à l'animal.

1.3.4.1/ L'impact de la génétique

La susceptibilité d'apparition d'athérosclérose lié à la génétique se joue à deux niveaux : à travers l'hérédité monogénique et les interactions gène-environnement.

Dans le cas de l'hérédité monogénique le concept de la génétique mendélienne associe à une maladie, une ou plusieurs mutations sur un gène dont l'effet délétère est majeur. Dans ce cas les mutations expliquent presque totalement la maladie. Pour l'athérosclérose cela concerne l'hypercholestérolémie familiale ou la dyslipémie de type IIb du classement de Fredrickson. Une atteinte homozygote entraîne une perte de fonctionnalité totale des récepteurs apoB des LDL. Cela se manifeste par une accumulation élevée de LDL et une apparition précoce de la maladie. Avec le progrès de la génétique de nombreux autres gènes ont été découverts comme étant à l'origine d'athérosclérose. Malgré leur diversité ces gènes représentent qu'une part réduite de l'implication génétique dans l'athérosclérose (TOUSSAINT et al., 2003).

La plupart des gènes augmenteraient la susceptibilité de la maladie à travers leur interaction gène-environnement. Dans ce cas de nombreux gènes sont impliqués et l'effet d'une mutation isolée serait faible et l'athérosclérose s'exprimerait en présences de certains facteurs environnementaux. Malgré un effet individuel faible ces mutations sont fréquentes et jouent un rôle majeur au niveau de la population et leur contrôle constitue un enjeu de santé public important. A titre d'exemple l'isoforme E4 de l'apolipoprotéine E apparaîtrait suivant différentes localisations de mutations. Cette isoforme entraînerait une augmentation du LDL et s'accompagnerait d'un risque accru d'infarctus du myocarde dans 50% des cas. Un autre exemple est celui de l'interaction entre les gènes codant le récepteur β 2-adrénérique et l'effet de l'activité physique sur le poids. Une mutation du récepteur β 2-adrénérique impliqué dans la lipolyse entraîne une moins bonne élimination des acides-gras lors d'exercice physiques entraînant ainsi une dyslipémie. Cette mutation sélectionnée sur de longues périodes pour s'adapter à la vie sauvage n'est plus adapté aux modes de vie de surconsommation alimentaire et sédentaire (TOUSSAINT et al., 2003).

D'autres études ont montré une implication de la génétique dans l'athérosclérose, notamment chez les souris. Des souris avec une génétique favorisant l'apparition de stries lipidiques, nourries avec une alimentation athérogène ont montré une accumulation accrue de LDL oxydés, pour une concentration identique en cholestérol et en triglycérides dans le foie, par rapport aux souris ayant une résistance à l'apparition des stries lipidiques nourries avec la même alimentation. Des résultats similaires sont obtenus lors d'injection de LDL oxydés. Ainsi la génétique aurait un impact sur la quantité de LDL oxydés accumulés ce qui pourrait faire varier la susceptibilité d'apparition de l'athérosclérose (Berliner et al., 1995).

Des études épidémiologiques ont aussi montré le rôle du sexe dans la prévalence d'athérosclérose. En effet les mâles seraient plus susceptibles de déclarer l'athérosclérose chez l'homme (Wang, Butany, 2017).

Comme on l'a vu la plupart des effets génétiques ne sont pas des facteurs favorisants seuls, ils seraient liés à l'environnement et notamment à l'hygiène alimentaire et l'activité physique.

1.3.4.2/ Facteurs favorisants liés à l'hygiène : l'alimentation et la sédentarité

Des études épidémiologiques ont montré que la prévalence d'athérosclérose varierait selon le pays, image des habitudes alimentaires (Grundy et al., 2002). L'alimentation intervient à deux niveaux : soit en apportant un excès de cholestérol ou de graisses insaturées augmentant le niveau de LDL circulants, soit en favorisant l'oxydation des LDL dans l'endothélium vasculaire (TOUSSAINT et al., 2003).

Les régimes très énergétiques, qu'ils soient à base de lipides ou de glucides, augmentent le risque d'athérosclérose. En effet l'obésité peut favoriser l'apparition d'une dyslipémie de type IV. La sédentarité en favorisant l'obésité favoriserait elle aussi les dyslipémies de type IV (DENIS, 1996). Cependant pour des régimes ayant le même apport en énergie, les régimes riches en glucides abaissent le cholestérol total, les LDL et les HDL sans modifier toutefois le rapport LDL/HDL. De plus des régimes riches en lipides insaturés et pauvres en lipides saturés et en glucoses seraient protecteurs vis-à-vis de l'athérosclérose. En effet ces acides gras peuvent s'oxyder en aldéhyde sans former des DRO contrairement aux acides gras saturés diminuant ainsi la quantité de Mox-LDL dans l'intima et réduisant les processus inflammatoires amenant aux stries lipidiques. De plus les acides gras insaturés activeraient l'action anti-inflammatoire des Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPAR) ce qui ralentirait le processus d'athérogenèse (TOUSSAINT et al., 2003).

D'autres observations épidémiologiques suggèrent un effet bénéfique des fibres dans l'alimentation. Les fibres solubles abaissent le cholestérol total et le LDL sanguins. L'effet des fibres passe notamment par le remplissage de l'estomac en diminuant la satiété et ainsi la prise énergétique lors du repas. De plus les fibres joueraient un rôle dans l'émulsion des lipides dans le tractus intestinal et dans la diminution de l'activité de la lipase pancréatique diminuant de concert l'absorption intestinale des lipides. D'autres effets des fibres ont été démontrés en favorisant l'excrétion du cholestérol dans la bile, augmentant ainsi son élimination (TOUSSAINT et al., 2003).

Enfin certains nutriments dans l'alimentation peuvent jouer un rôle dans la prévention primaire d'athérosclérose. Ces nutriments peuvent être antioxydants, comme les vitamines liposolubles (A, C, E) ou les flavonoïdes, ou permettent d'abaisser le niveau de LDL tel que les phytostérols. Des aliments tels que l'avoine, le soja et l'ail permettraient aussi de baisser le taux de LDL (TOUSSAINT et al., 2003).

1.3.4.3/ Autres facteurs favorisants

Chez l'homme le tabagisme est un autre facteur favorisant l'athérosclérose. En effet le tabac aurait un fort effet thrombogène en augmentant la viscosité du sang, en augmentant le taux de fibrinogène du caillot, en augmentant l'agrégation et d'adhésivité des plaquettes et en réduisant l'élasticité vasculaire. Le tout augmenterait le risque d'apparition d'accidents aigus de thrombose, complication majeure de l'athérosclérose (TOUSSAINT et al., 2003). Malgré son importance chez l'homme, le tabagisme est inexistant chez l'animal sauf le tabagisme passif des animaux des propriétaires fumeurs.

Le diabète aurait aussi un rôle dans l'apparition d'athérosclérose. En effet des études ont montré le rôle dyslipémiant du diabète où le taux de VLDL et de triglycéride sont augmentés et le taux de HDL. Le taux de LDL est quant à lui plus rarement augmenté. De plus le diabète avec l'hyperglycémie induirait une glycation ubiquitaire des protéines et notamment les apolipoprotéines. Cette glycation affecterait les ApoE et les ApoB et altère ainsi la reconnaissance des LDL par les récepteurs à l'ApoB-100. Cela amène à une accumulation accrue des LDL dans l'intima. La glycation excessive favorise l'oxydation des LDL qui conduit à une captation accélérée des LDL par les macrophages et favorise l'apparition de cellules spumeuses. Le tout favorise ainsi l'apparition des stries lipidiques et la formation de la plaque athéroscléreuse chez les diabétiques (TOUSSAINT et al., 2003).

1.3.4.4/ L'impact d'agent pathogènes

Lors de la découverte dans les années 1860 du caractère inflammatoire de la plaque d'athérosclérose par Rudolf VIRCHOW, en plus d'hypothèses hémodynamiques et alimentaires, des hypothèses infectieuses arrivèrent vite dans la tête des pathologistes. Trois modèles permettent de faire intervenir une infection dans l'athérosclérose. Le premier est le modèle direct et considère que l'agent pathogène est à l'origine de l'inflammation. Le second serait indirect et ferait intervenir des réactions inflammatoires croisées entre les antigènes bactériens et ceux des tissus lésés. Le troisième modèle serait une intervention de l'agent pathogène indirect et non spécifique, c'est-à-dire que toutes infections entraînent un processus inflammatoire pouvant alimenter celui de l'athérosclérose.

Si on suit la première hypothèse l'agent pathogène mis en cause devra avoir une large répartition épidémiologique, avoir un tropisme pour la paroi artérielle, avoir une capacité de rémanence, de latence et de récurrence et pouvoir affecter le cycle évolutif des plaques et notamment les complications. Les seuls microbes respectant ces critères et incriminés à ce jour sont les *Herpesvirus* et particulièrement le cytomégalovirus, *Chlamydia pneumoniae*, et *Helicobacter pylori*. La plus en vue est *C. pneumoniae* mais aucune sérologie n'a encore confirmé sa présence lors de manifestation cliniques. Certaines études montrent des traces de cette bactérie dans les plaques d'athérosclérose, d'autres montrent qu'un traitement antibiotique spécifique de cette bactérie ne diminue pas la prévalence d'athérosclérose. Dans l'état actuel des choses il est difficile de savoir si dans cette dernière étude les moyens d'attaques étaient suffisant (antibiothérapie trop faible, trop brève ou trop tardive). Dans le cas contraire cela montrerait que *C. pneumoniae* serait un faux coupable et que sa présence dans les plaques serait juste un « vagabondage inoffensif » (TOUSSAINT et al., 2003) (Beaufrere, 2013).

Au bilan, nous pouvons ne tirer que les mécanismes d'apparition d'athérosclérose ne sont pas encore entièrement compris et que malgré une théorie attrayante dans le rôle des agents infectieux dans l'athérosclérose, aucune études ne confirme à ce jour leur implication (TOUSSAINT et al., 2003).

Chapitre 4 : L'athérosclérose aviaire : contribution des Psittacidés

À la suite de la compréhension des grands mécanismes généraux de l'athérosclérose chez l'homme nous allons maintenant nous intéresser à l'animal. En plus de certains mammifères affectés par des athéroscléroses spontanées, tel que le Rat brun (*Rattus norvegicus*) ou la Souris grise (*Mus musculus*), les oiseaux sont de bons sujets d'études de l'athérosclérose. En effet celle-ci a été étudiée chez les poulets (*Gallus gallus domesticus*), la Caille japonaise (*Coturnix japonica*), le Pigeon (genre *Columba*) ou le Perroquet (taxon des Psittacidés), pour mieux connaître le mécanisme pour la santé humaine ou en tant que maladie aviaire (TOUSSAINT et al., 2003) (Beaufrere, 2013).

L'athérosclérose, en tant que maladie aviaire, a été bien étudiée chez les Psittacidés. Selon les études la prévalence de la maladie s'étalait de 1,9% à 91,8% (Beaufrere, 2013). De part cette prévalence élevée les Psittacidés représentent un bon modèle aviaire pour mieux comprendre l'athérosclérose. De plus les Psittacidés ont été domestiqués dans un but d'ornement et non dans un but de consommation carnée, et se rapprochent en ce point des rapaces utilisés pour la chasse ou les spectacles.

Nous allons donc voir quelles sont les particularités du métabolisme lipidique des oiseaux par rapport au modèle général précédent puis présenter les signes cliniques de l'athérosclérose chez les oiseaux, ses méthodes diagnostiques, sa gestion et la prévention des facteurs de risques les concernant.

1.4.1/ Particularité physiologique et anatomiques des oiseaux

Le métabolisme des lipides chez les oiseaux est identique au modèle général décrit précédemment, malgré quelques subtilités :

- L'absorption intestinale des acides gras et du cholestérol se fait au niveau de la moitié distale du jéjunum et s'étale sur une petite partie de l'iléon car la vésicule biliaire chez les oiseaux se déverse proche du duodénum distal.
- Le système lymphatique est très peu développé chez les oiseaux, ainsi l'ensemble des globules de lipoprotéines circulent en quasi-totalité dans le sang et notamment les chylomicrons qui font le lien entre l'intestin et le foie par le système veineux porte et non par la lymphe.

- Chez les oiseaux le duo de protéines ApoB-48 et ApoE des mammifères n'existent pas, il est remplacé par l'ApoB-100, impliquant ainsi les VLDL et les chylomicrons dans l'apport de cholestérol aux cellules.
- Tout comme chez les mammifères les HDL ont un rôle recycleur des excès de cholestérol.
- La concentration en chylomicron dans le sang dépend du statu nutritionnel de l'oiseau et du contenu lipidique de son alimentation (Griffin, Hermier, 1988).
- La concentration sanguine en VLDL est fortement corrélée de manière positive avec la masse grasseuse totale et sert ainsi chez les poulets de chair de critère de sélection concernant le dépôt de gras (Guo et al., 2011).

Tout le reste du métabolisme est transposable à l'identique chez l'oiseau.
(Scanes, 2015)

Chez tous les vertébrés l'organisation tissulaire des artères est similaire (KARDONG, 2015). Quelques particularités anatomiques existent chez les oiseaux :

- La pression artérielle est nettement plus élevée chez les oiseaux par rapport aux mammifères, la pression systolique du poulet atteint 200 mmHg.
 - Les principales artères sont : les troncs brachiocéphaliques droit et gauche, les artères carotides communes, les artères pulmonaires et l'aorte. Ces artères se ramifient notamment en artère fémorale, artère ischiale ou en artère vertébrale (Figure 14).
 - Au contraire des mammifères l'arc aortique se situe à droite.
- (Chorfi, Venne, 2015) (FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016)

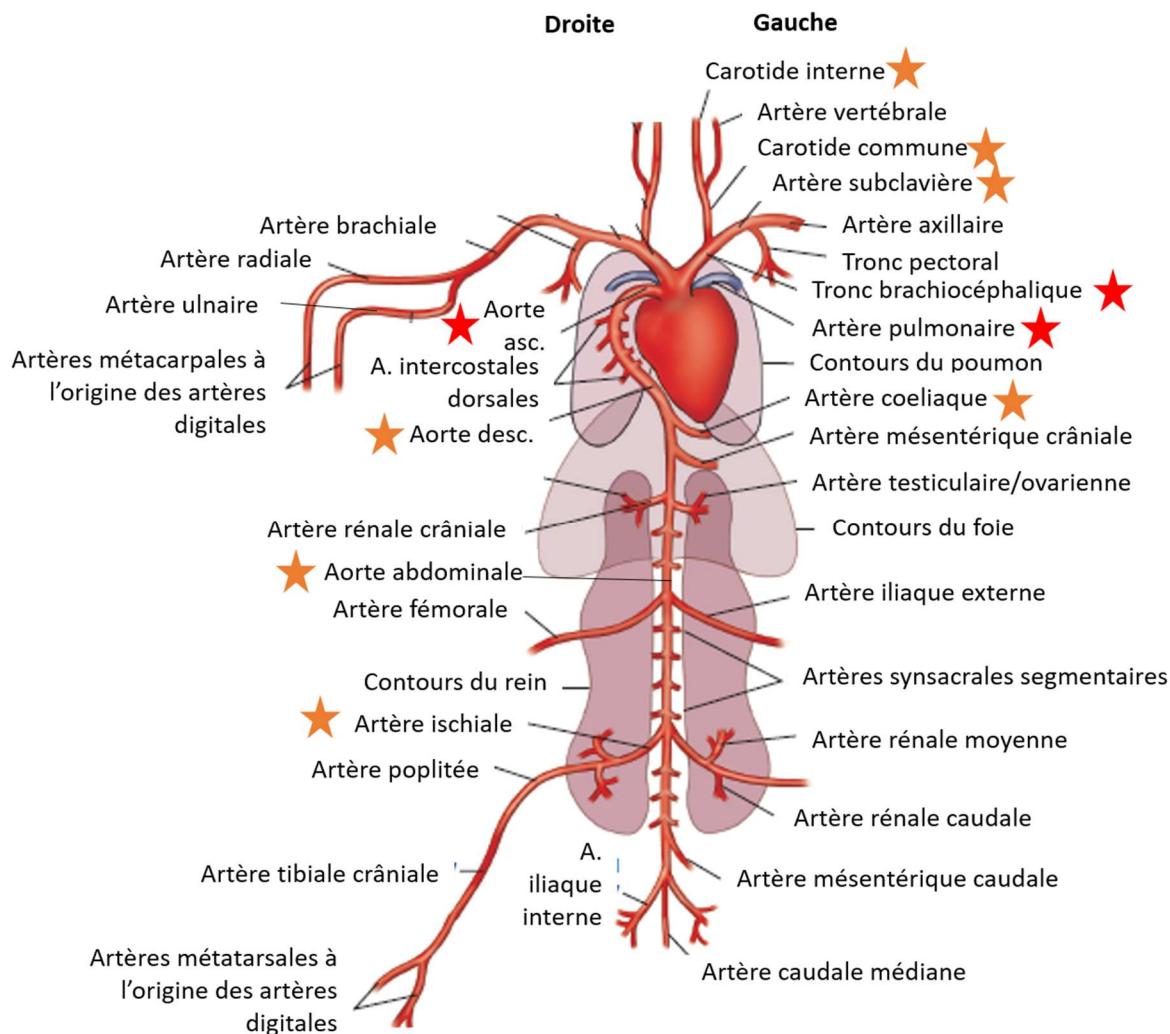


Figure 14 : Schémas des principales artères en vue ventrale, représentatif de la majorité des Psittaciformes. A. : Artère ; Asc. : Ascendante ; Desc. : Descendante. Les étoiles rouges représentent les principales localisations d'athérosclérose et les étoiles oranges représentent les sites secondaires.

Schéma traduit et adapté de B-C. Fitzgerald et H. Beaufrère : Chapter 6 : Cardiology issu de Current therapy in Avian medicine and surgery (FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016) et H. Beaufrère : Avian atherosclerosis : parrots and beyond (Beaufrere, 2013).

1.4.2/ L'athérosclérose chez les Psittacidés

Chez les oiseaux de compagnies l'athérosclérose est la première maladie vasculaire non-infectieuse en termes de prévalence. Les plaques d'athéromes sont les lésions cardiovasculaires les plus identifiées à l'examen post-mortem chez les Psittacidés (FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016).

1.4.2.1/ Physiopathologie, étiologie et localisations privilégiées des plaques athéromateuses

Concernant le chapitre de la physiopathologie, la formation de la plaque athéromateuse est identique à celle présentée chez l'homme, c'est un processus inflammatoire dû à l'oxydation de LDL dans l'endothélium des vaisseaux. De même les complications les plus fréquentes sont la sténose, la thrombose, l'hémorragie et l'embolie.

La majorité des athéroscléroses chez le perroquet sont liées à une dyslipémie, et principalement à une hypercholestérolémie. Quelques études ont montré que ces dyslipémies apparaissent lors de régimes alimentaires inadaptés, accompagnés d'un manque d'exercice, intrinsèquement lié au mode de vie en captivité. Avec l'implication de *Chlamydia pneumoniae* dans l'athérosclérose humaine (malgré les controverses) et la forte prévalence de *Chlamydia psittaci* chez le perroquet des études ont été menées pour rechercher l'implication de *C. psittaci* dans l'athérosclérose du perroquet. Ces études ont eu des conclusions contradictoires et il n'est pas possible à ce jour d'affirmer l'implication de *C. psittaci* dans l'athérosclérose clinique.

Les artères les plus touchées chez le perroquet sont principalement les grosses artères centrales proches du cœur tel que : l'aorte ascendante, le tronc brachio-céphalique, les artères pulmonaires (étoiles rouges) (Figure 14). Les lésions dans l'aorte descendante, l'aorte abdominale et les artères périphériques : tel que les artères carotides, les artères coronaires, les artères subclavières, les artères ischiales et les artères cœliaques ; sont moins fréquentes mais ont été décrites chez le perroquet (étoiles oranges) (Figure 14).

(FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016) (Beaufreere, 2013)

1.4.2.2/ Signes cliniques

Dans la majorité des cas l'athérosclérose se traduit par une absence de signes cliniques. Lorsqu'ils sont présents ils se traduisent par des morts subites, des insuffisances cardiaques congestives, des insuffisances valvulaires, des signes respiratoires tels que des dyspnées et des intolérances à l'effort, et des signes neurologiques tels que des ataxies ou des claudications intermittentes. Les claudications intermittentes ont été relevées chez des perroquets Amazone (*Amazonas spp.*) ayant de nombreuses lésions d'athérosclérose dans l'aorte abdominale et les artères ischiatiques. Une gangrène sèche de la patte est même apparue chez un Ara à collier jaune (*Ara auricollis*) souffrant d'une athérosclérose généralisée.

Chez les perroquets ces signes cliniques sont principalement dus à une réduction de flux sanguin liée à la sténose formée par la plaque. Les événements thrombotiques et thrombo-

emboliques cliniques sont rares chez les oiseaux par rapport à leur importance chez l'homme, ils ne représentent que 1,9% des complications. Cette différence s'explique d'une part par une taille différente des vaisseaux entre les Psittacidés et l'homme et ainsi des propriétés hémodynamiques différentes. D'autre part les thrombus formés par des plaquettes d'oiseaux seraient plus résistant aux forces de cisaillement (ou gradient de vitesse) et prendraient plus rarement des formes en trois dimensions, ce qui diminuerait le risque d'embolie.

Les infarctus du myocarde seraient plus rares chez les oiseaux. En effet la présence d'une circulation collatérale plus fournie diminuerait le risque d'apparition de sténose ischémique. Cependant des accidents vasculaires cérébraux (AVC) lié à l'athérosclérose ont été notés chez le Gris du Gabon (*Psittacus erithacus*) et des anévrysmes coronaires secondaires à l'athérosclérose existent chez le Cacatoès blanc (*Cacatua alba*) et la Perruche Alexandre (*Psittacula eupatria*).

(Beaufrere, 2013)

1.4.2.3 / Diagnostic

Avec le manque d'information sur le sujet et la faible expression clinique spécifique, le diagnostic ante mortem d'athérosclérose est compliqué. Il est toutefois possible d'émettre une suspicion d'athérosclérose en se basant sur tout ou partie des signes cliniques et sur d'éventuels facteurs de risques (cf 1.4.3). Une mesure de la pression artérielle peut être faite pour estimer le risque d'apparition de claudication intermittente mais celle-ci doit se faire de manière invasive et n'est pas réalisable en pratique clinique. Les examens complémentaires les plus prometteurs sont les outils d'imageries. Etant donné l'importance des réductions de flux dus à la sténose chez les oiseaux l'angiographie est un bon examen pour mesurer la lumière des artères. Cette méthode a permis de diagnostiquer un cas d'athérosclérose chez un Cacatoès blanc (Vink-Nooteboom et al., 2008). Les méthodes d'ultrasonographies tel que le Doppler ou l'échographie donnent de bon résultat pour diagnostiquer les signes cardiaques tel que les insuffisances cardiaques congestives et les insuffisances valvulaires. Les échographise trans-trachéale permettent de bien observer le cœur et la base de l'aorte. Toutefois cette méthode n'est pas possible chez les animaux gras à cause de l'accumulation de graisse entre le cœur et la trachée chez les oiseaux. (Beaufrere, 2013)

Le manque de connaissance dans les facteurs de risques liés aux hyperlipémies et les grandes variations du taux de lipoprotéines lors du cycle reproductif de la femelle font que les outils biochimiques ne sont pas encore des outils suffisamment performants pour le diagnostic

d'athérosclérose. Aucune études à ce jour n'ont montré que le classement de Fredrickson était applicable chez l'oiseau. Des alimentations enrichis en cholestérol ont montré artificiellement une augmentation de la prévalence en athérosclérose et du taux de cholestérol et de LDL dans le sang d'oiseaux s'approchant des types IIb et III. Une étude de cas sur 31 perroquets a montré que les animaux atteints d'athéroscléroses avaient une concentration en cholestérol plus élevées que les animaux indemnes (Pilny et al., 2012) (Beaufrere, 2013).

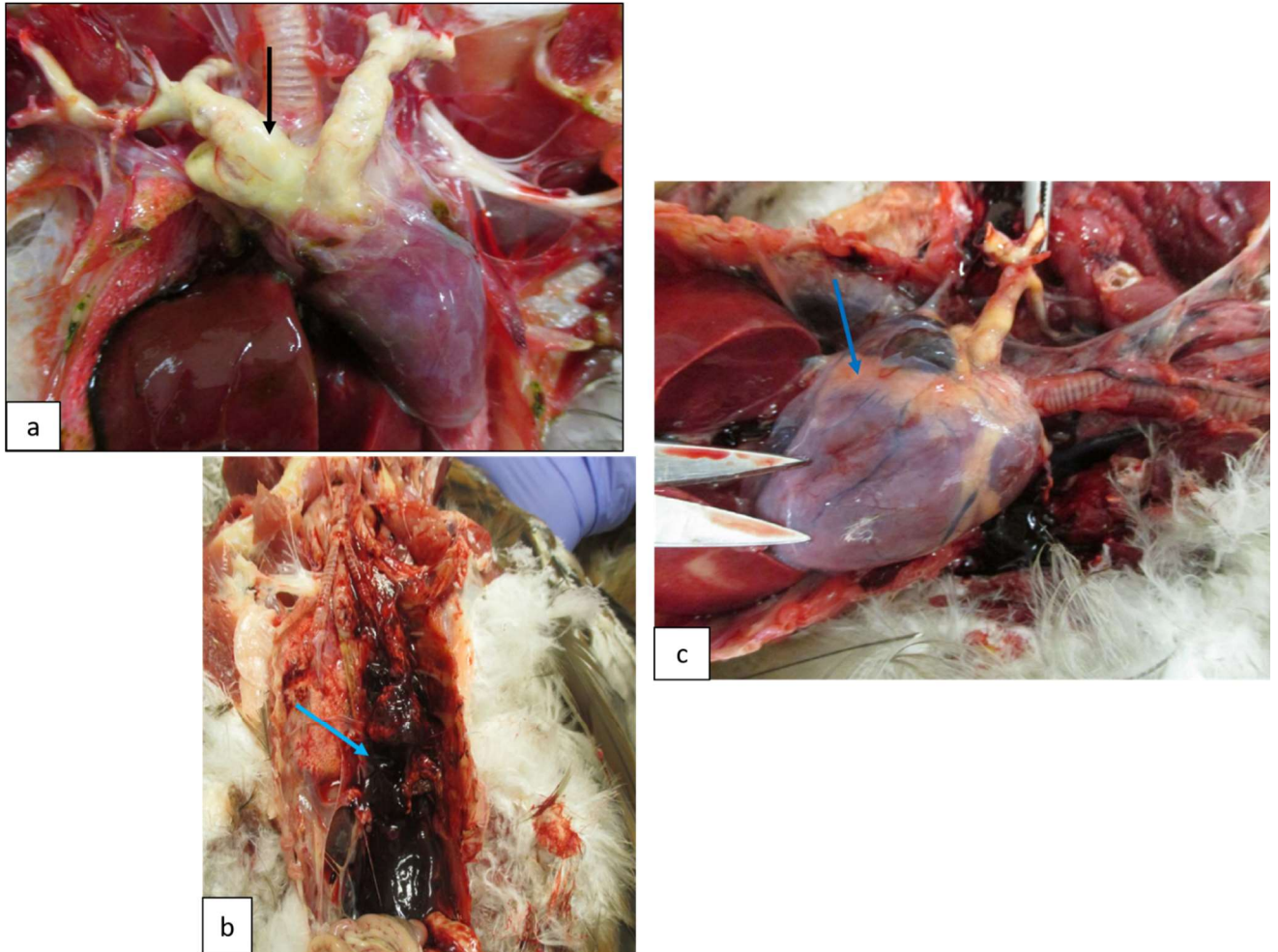


Photo 4 : (a) Vue macroscopique chez un Milan noir (Milvus migrans) d'une aorte hypertrophiée et indurée (flèche noire) ; (b) Vue macroscopique chez un Milan parasite (Milvus milvus parasiticus) de sang dans la cavité abdominale (flèche bleu ciel) ; (c) Vue macroscopique chez un Milan noir d'une congestion et d'une hypertrophie cardiaque (flèche bleue)

Photos prises Frank BELAUD (LABOVET CONSEIL®)

L'athérosclérose se diagnostique plus facilement à l'autopsie et peut être intéressante à proposer aux parcs et aux zoos pouvant posséder plusieurs individus et comprendre ainsi la cause de la mort. Des hypertrophies et des indurations des artères peuvent être vu au niveau de la plaque athéromateuse (Photo 4a). Dans les cas les plus développés la plaque peut être vue

elle-même. A l'autopsie des complications, tel que la rupture d'anévrisme, peuvent être suspectées en cas de présence abondante de sang dans la cavité abdominale (Photo 4b). Dans d'autres cas les lésions au niveau des artères peuvent s'accompagner d'une hypertrophie et d'une congestion du cœur, voire de la rate ou du cœur (Photo 4c).

Cependant les complications tel que la rupture d'anévrisme ou les hypertrophies du cœur peuvent avoir d'autres origines tel que des insuffisances en cuivres, des hypertensions ou des infections fongiques (FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016). L'histopathologie est l'examen complémentaire nécessaire à pratiquer afin d'avoir un diagnostic de certitude suite à une suspicion d'athérosclérose à l'autopsie. En plus de confirmer le diagnostic l'histologie permet de grader la lésion d'athérosclérose. Cette gradation établie par le Dr BEAUFRERE s'inspire de la gradation chez l'homme selon l'AHA et se divise en 7 types. Les types I à VI correspondent à l'identique aux types du classement AHA et le type VII supplémentaire correspond à une plaque calcifiée que l'on peut associer au type Vb du classement AHA (Tableau 2). Comme chez l'homme seules les lésions avancées, du type IV au type VII, permettent de confirmer la présence d'une athérosclérose pathologique à l'origine de la mort. Les stades lésionnels précoces, lorsqu'ils sont diagnostiqués à l'histologie, ne sont pas suffisamment développés pour expliquer la mort et ne peuvent pas faire l'objet d'un diagnostic de confirmation (Beaufrière et al., 2011).

1.4.2.4 / Gestion médicale

Par manque de recul sur le sujet, la gestion médicale se fait de manière empirique par rapport à l'homme. L'utilisation de statines est donc possible avec les limites que représente l'utilisation de médicament hors du cadre de l'AMM. L'avorstatine est la molécule la plus utilisée chez les oiseaux, elle présente un temps de demi-vie long (15 à 30 heures chez l'homme) mais possède une clairance hépatique et peut ainsi avoir des interactions avec l'itraconazol et d'autres antifongiques utilisés chez les oiseaux. La rosuvastatine présente un temps de demi-vie similaire mais n'est pas métabolisé par le foie et ne présente ainsi aucunes de ces interactions. D'autres statines sont utilisables tel que la lovastatine, la simvastatine et la pravastatine mais elles possèdent des temps de demi-vie plus courts. Une étude menée par le Dr BEAUFRERE sur des perroquets Amazones d'Hispaniolia (*Amazone ventralis*) traité à la rosuvastatine à hauteur de 10 à 25 mg/kg n'a pas réussi à déterminer des doses thérapeutiques efficaces. L'utilisation d'antihypertensifs, tel que les β -bloquants, ne sont pas envisageables chez l'oiseaux à cause de la difficulté à mesurer la tension et ainsi d'évaluer leur bénéfice (Beaufrière,

2013). Aucun cas d'athérosclérose aviaire n'a reporté un traitement chirurgical comme cela est possible de réaliser chez l'homme.

A ce jour, et malgré le manque de connaissance, la meilleure gestion de l'athérosclérose aviaire consiste à pouvoir identifier les facteurs de risques et de les régler lorsque cela est possible. Dans le cadre d'une médecine individuelle cela ne permettra pas de guérir l'animal à cause du peu de réversibilité de la maladie mais ralentira l'évolution de la maladie et le risque de complication. Dans une optique de médecine de groupe la gestion des facteurs de risques revêt une importance supérieure car, même si les animaux sévèrement atteints ont peu de chances de guérir, cela permettra de réduire la prévalence de l'athérosclérose au sein du groupe.

1.4.3/ Les facteurs de risques de l'athérosclérose aviaire

Chez les Psittacidés plusieurs facteurs de risques ont été identifiés dont une partie liée à la génétique. En effet des espèces tels que les Perroquets Amazones, le Gris du Gabon, la Calopsitte élégante (*Nymphicus hollandicus*), les Cacatoès (*Cacatua spp.*) et les Aras (*Ara spp.*) sont plus susceptibles de développer une athérosclérose. Le sexe est aussi un facteur de risque, mais à l'inverse de l'homme, ce sont les femelles qui sont plus susceptibles de développer la maladie, en lien avec les fortes variations lipidiques lors du cycle reproductif. Les œstrogènes favorisent les hypercholestérolémies à l'origine d'athérosclérose. L'âge est aussi un facteur déterminant, chez les Gris du Gabon et les Amazones aucuns cas d'athéroscléroses n'ont été détectés avant l'âge de 20 ans.

En plus de ces facteurs, les dyslipémies (dont l'hypercholestérolémie), les alimentations riches en énergies et le manque d'activité physiques seraient aussi des facteurs de risques identifiés chez les psittacidés pour l'athérosclérose, mais peu d'études ont été menées pouvant le confirmer.

En ce qui concerne les dyslipémies, un rôle a été montré chez plusieurs espèces mais aucunes règles ne semblent les unir. Une étude rétrospective chez les Gris du Gabon, les Amazones et les Calopsittes ont associé une concentration élevée de cholestérol et d'HDL aux animaux présentant de l'athérosclérose. Cela remet en question l'effet bénéfique des HDL sur les plaques athéromateuses. Il semblerait que chez les Psittacidés, et chez la plupart des oiseaux, la majorité du cholestérol est transporté dans les HDL et ainsi l'effet athérogène des HDL dépasserait l'effet athéroprotecteur. De plus la Conure veuve (*Myiopsitta monachus*) est l'espèce de Psittacidé présentant les concentrations en cholestérol, en triglycérides et en lipoprotéines les plus élevés et ne semble pas être atteint d'athérosclérose étant donné que

aucunes prévalences n'a pu être établies chez cette espèce. Des diètes artificielles enrichies en lipides chez la Conure veuve ont cependant montré une apparition d'athérosclérose accompagnée d'une augmentation des LDL, ce qui suggère un effet du régime alimentaire.

Une autre étude a été menée de manière similaire sur la Perruche ondulées (*Melopsittacus undulatus*) et a montré une augmentation de l'incidence d'athérosclérose mais qui n'était pas accompagné de modifications du métabolisme lipidique. Chez le Gris du Gabon une étude a montré une cholestérolémie plus élevée chez les oiseaux ayant reçu une alimentation riche en énergie par rapport aux oiseaux ayant reçu une alimentation pauvre en énergie ou riche en énergie et enrichies en acides gras insaturés. Au contraire, toujours chez la même espèce, une autre étude a montré que les acides gras insaturés n'avaient aucuns impacts. Le rôle des acides gras insaturés, chez les Psittacidés n'est pas clair, mais il semblerait que les acides gras oméga 3 joueraient un rôle protecteur de l'athérosclérose.

L'impact du manque d'exercice, lié à la captivité, a été étudié chez trois espèces de Cacatoès en Australie : le Cacatoès à huppe jaune (*Cacatua galerita*), le Cacatoès rosablin (*Eolophus roseicapilla*) et le Cacatoès nasique (*Cacatua tenuirostris*). Parmi les 84 oiseaux sauvages en bonnes santé autopsiés, tous avaient une bonne condition d'engraissement, aucuns n'a présenté des lésions pouvant évoquer l'athérosclérose tout comme les histologies sur le cœur et les artères majeures (aorte ascendante et tronc brachio-céphalique). Ces résultats dénotent avec l'existence d'athérosclérose chez ces oiseaux en captivités. On peut donc penser que la captivité réduit les efforts physiques de l'animal ce qui diminuerait ses besoins en énergie et rendrait inadapté son alimentation tirée de son mode de vie sauvage, qui deviendrait trop riche en énergie.

Si son implication est montrée, *C. psittaci* pourrait être un facteur de risque d'athérosclérose.

(Beaufrere, 2013) (FITZGERALD, BEAUFREERE, 2016)

1.4.4/ L'athérosclérose chez les rapaces en captivité : état des lieux des connaissances sur les Accipitridés

Les Accipitridés est une famille comprenant de nombreux rapaces diurnes, à l'exception des faucons, tel que les Milans, les Aigles ou bien les Eperviers (Lepage, 2018).

A ce jour peu d'études ont été menées sur cette maladie chez les rapaces et les connaissances que nous avons sur le sujet se basent principalement sur les connaissances que l'on a chez les Psittacidés. L'athérosclérose est cependant la maladie cardiovasculaire la plus répandue chez les rapaces en captivités (FITZGERALD, BEAUFRERE, 2016). En effet une étude dans le Nord de la Californie a montré que la prévalence de l'athérosclérose chez les rapaces vivant à l'état sauvage était 1,5% et significativement plus faible que la prévalence en captivité (Morishita et al., 1998).

La principale différence entre les Accipitridés et les Psittacidés réside dans le régime alimentaire. Les rapaces ont un régime alimentaire carnivore alors que les perroquets sont eux granivores. Ainsi l'alimentation de ces premiers sera naturellement plus riche en cholestérol et en lipide mais plus pauvre en glucides, ce qui pourrait être un facteur de risque de l'athérosclérose.

En ce qui concerne ces facteurs de risques une étude a été menée en 2013 sur des Milans sacrés (*Haliaeetus indus*). Celle-ci a montré que le Milan sacré était une espèce sensible à l'athérosclérose présentant des concentrations plasmatiques en cholestérol plus élevé. De plus l'alimentation de ces oiseaux en captivité diffère grandement de leur alimentation à l'état sauvage, constituée de poissons et de coquillages. Un impact de cette alimentation a été suspecté mais reste à prouver (Potier, 2013).

Une autre étude a été menée sur des Milans noirs (*Milvus migrans* subsp.) en 2013 par le Docteur Charles FACON (Facon et al., 2014). Nous détaillerons cette étude dans la partie suivante car l'étude de notre thèse complète celle-ci.

Partie 2 : Le contexte et l'origine de cette étude

L'étude de l'impact de l'alimentation a été menée sur les collections de Milans noirs et de Milans parasites du Grand Parc du Puy du Fou® qui présentaient des morts subites inexplicables à partir de 2010. Nous allons donc présenter le contexte de l'étude en présentant le parc, les espèces concernées et la façon de travailler du parc avec les Milans notamment. Nous terminerons par un bref historique du cas et du travail du Docteur FACON précédant cette étude pour en venir aux problématiques qui se sont posées dans notre travail.

Chapitre 1 : Présentation du Grand Parc du Puy du Fou®

2.1.1/ La présentation générale du parc

L'histoire du Grand Parc du Puy du Fou commence le 13 juin 1977 lorsque Philippe De Villier découvre « sous les ronces et les orties » le château du Puy du Fou (L'Association pour la mise en valeur du Château et du Pays du Puy du Fou (loi 1901), 2017a). L'idée de créer un spectacle retraçant l'histoire de France et de Vendée lui vient à l'idée et un an plus tard, le 16 juin 1978, la première représentation de la Cinéscénie a lieu. Ce spectacle nocturne est joué par 600 bénévoles que l'on nomme « Puyfolais ».

Face au succès grandissant de ce spectacle un parc ouvert de jour est créé en 1989 : le Grand Parc du Puy du Fou. Ce parc fait dans l'innovation en proposant des spectacles mettant en avant l'histoire de France dans des décors d'époque reconstitués. Parmi ces spectacles on retrouve « le Signe du Triomphe », un spectacle représentant les jeux du cirque de l'époque Gallo-Romaine dans une reconstitution du Colisée de Rome, ou « le Secret de la Lance », un spectacle de chevaliers se déroulant devant un rempart de château de 8 mètres de haut pour 60 de long entièrement construit pour ce spectacle. Au contraire de la Cinéscénie le Grand Parc du Puy du Fou est animé uniquement par des professionnels.

Aujourd'hui le Grand Parc du Puy du Fou est le deuxième parc à thème français ayant accueilli en 2017 2.260 millions de spectateurs, un record pour le parc. C'est un parc reconnu mondialement ayant reçu en 2012 le « Thea Classic Award » du meilleur parc d'attraction et en 2014 le « Applause Award » du meilleur parc d'attraction (L'Association pour la mise en valeur du Château et du Pays du Puy du Fou (loi 1901), 2017b).

Un des spectacles laisse la part belle aux rapaces, « Le Bal des Oiseaux Fantômes ». Créé en 1990 le spectacle animé par L'Académie de Fauconnerie du Puy du Fou fait voler plus de 290 oiseaux au milieu des ruines du château du Puy du Fou.

(L'Association pour la mise en valeur du Château et du Pays du Puy du Fou (loi 1901), 2017a)

1.1.2/ L'Académie de Fauconnerie

L'Académie de Fauconnerie du Puy du Fou créé en 1990 s'occupe de la détention des 210 espèces d'oiseaux, de leurs soins et de leur apprentissage au spectacle. Elle est dirigée par Jean-Louis LIEGEOIS et emploie 34 personnes lors de la saison estivale. Parmi ces employés sept ont un statut permanent et s'occupe des oiseaux l'hiver. Légalement le fonctionnement de l'académie repose sur « l'arrêté du 25 mars 2004 fixant les règles générales de fonctionnement et les caractéristiques générales des installations des établissements zoologiques à caractère fixe et permanent, présentant au public des spécimens vivants de la faune locale ou étrangère ». Cette loi impose des règles de détentions visant à maximiser le bien-être animal et impose la détention d'un certificat de capacité pour chaque espèce que le parc souhaite accueillir. Au moins un des employés permanents possède le certificat de capacité pour toutes les espèces aviaires présentes.

Chapitre 2: Les espèces concernées par l'étude

Cette étude concerne deux espèces de rapaces, les Milans noirs (*Milvus migrans*) et les Milan parasites (*Milvus migrans parasiticus*), qui étaient les deux seules espèces du parc à être atteint d'athérosclérose (Facon et al., 2014).

La domestication des Milans avait peu d'attrait pour les fauconniers du Moyen-âge. L'oiseau était surnommé « escoufle », qui est une injure faisant référence à son caractère charognard et difficile à dresser. Le terme latin *Milvus* ferait quant à lui référence à « la mollesse de son vol » (Baudoin, 2007). Les Milans étaient toutefois utilisés pour le « vol pour le sacre », une joute aérienne où ils servaient de proie pour des Faucons sacres (*Falco cherrug*) ou gerfauts (*Falco rusticolus*) (Baudoin, 2007). Aujourd'hui les Milans sont plus appréciés pour les spectacles en raison de leur capacité à voler en grande nuée, de leur capacité à tolérer le vol avec d'autres espèces, de leur abondance en France et de leur reproduction facile à maîtriser.

2.2.1/ Le Milan noir (*Milvus migrans*)

Le Milan noir est une espèce de la famille des Accipitridés de taille intermédiaire entre la Buse variable (*Buteo buteo*) et le Milan royal (*Milvus milvus*). La longueur de son corps est comprise entre 55 et 60 cm et son envergure entre 113 et 117 cm. Son plumage est brun foncé avec une tête claire et striée, un bec jaune à la base et noir à son extrémité et une échancrure discrète de la queue (Photo 5) (Heinzel et al., 2014). Le Milan ne paraît noir que lorsqu'il est vu de loin. Il peut peser entre 650 et 1000 g. C'est un animal bruyant dont le cri ressemble à un « miaulement aiguë et plaintif » (Bossus, Charron, 2017).



Photo 5: Photo de Milans noirs

Photo prise par Bruno BERTHEMY (http://observatoire-rapaces.lpo.fr/index.php?m_id=20064)

Comme son nom scientifique l'indique c'est une espèce migratoire que l'on retrouve au printemps et en été dans toute l'Europe sauf sur les îles Britanniques, au Danemark et en Norvège. L'hivernage de ces rapaces se fait en Afrique tropicale du Sénégal au Kenya (LPO, 2003). Les dernières migrations se font au mois d'octobre. C'est un oiseau qui fréquente les bords des lacs et des rivières boisés (Bossus, Charron, 2017) ou les vallées alluviales du moment qu'il y trouve des arbres surplombant les étendus d'eau pour y nicher. Les zones de prairie humide et les plaines agricoles sont aussi fréquentées par l'espèce. Certaines colonies vont aussi avoir une attirance pour nicher en périphéries des décharges d'ordures ménagères (LPO, 2003) ou proche des villes (Heinzel et al., 2014). Il pénètrent peu dans les grands massifs forestiers sauf si ils bordent un plan d'eau (LPO, 2003).

C'est un animal sociable (Heinzel et al., 2014) qui niche en colonies de grandes tailles nommées dortoirs. Ils se regroupent notamment dans les zones où la nourriture est abondante. Ces dortoirs formés lors de l'hivernage sont réduits et concernent une dizaine voire une quinzaine de couples. En période estivale les dortoirs sont plus imposants et peuvent réunir plus d'une centaine d'individus, ces dortoirs sont d'abord formés par les jeunes immatures puis sont agrandis par des couples d'oiseaux après la période nuptiale (LPO, 2003).

Le Milan noir commence à se reproduire à partir de l'âge de 2 à 3 ans mais atteint sa taille adulte dès l'âge de 7 à 8 mois. Les couples sont fidèles et gardent le même territoire d'une année à l'autre. Les couples privilégient la récupération d'anciens nids, soit celui qu'ils ont eu l'année précédente ou des nids de corneilles, dans un lieu boisé proche d'une étendue d'eau ou d'une source de nourriture. Lorsque le couple construit son nid il le fait sur des arbres où des pylônes à une hauteur de 8 à 15 mètres et garnis systématiquement son nid avec des détritiques (papier, chiffons, plastiques, ...). La ponte a lieu la seconde quinzaine d'avril et au début du mois de mai et la femelle pond deux à trois œufs (plus rarement quatre). L'incubation dure entre 32 et 33 jours et elle est couvée principalement par la femelle même si le mâle est capable de prendre le relai sur de courtes périodes. L'envol des jeunes se fait entre 42 et 50 jours et sont accompagné par les parents 15 à 30 jours supplémentaires après leur envol. La réussite de la reproduction dépend de la météo, des printemps humides et froids augmentent les mortalités précoces. A l'état sauvage la longévité maximale pour un Milan noir a été mesurée à 23 ans (LPO, 2003).

2.2.2/ Le Milan parasite (*Milvus migrans parasiticus*)

Selon les phylogénéticiens la classification du Milan parasite ne fait pas l'objet d'un consensus. Des études génétiques récentes ont montré que le Milan parasite de Madagascar et d'Afrique du Sud était une espèce à part entière (Johnson et al., 2005). Certains auteurs le considèrent comme une sous espèce du Milan à bec jaune et le nomment *Milvus aegyptus parasiticus* (Bird life international, 2018). La majorité des auteurs considère le Milan parasite comme une sous-espèce du Milan noir et lui attribuent le nom scientifique de *Milvus migrans parasiticus* (Heinzel et al., 2014).



Photo 6: Photo d'un Milan parasite

Photo prise par Charles J. Sharp (<https://www.sharpphotography.co.uk>)

Le Milan parasite est plus grand, d'une couleur plus rousse sur le ventre et plus brune sur le dos par rapport au Milan noir. Sa tête est plus foncée et son bec entièrement jaune. Il possède un espace blanc sous l'aile et sa queue est barrée (Photo 6) (Heinzel et al., 2014).

C'est un oiseau que l'on retrouve à l'état sauvage que sur le continent africain, il passe la saison estivale en Egypte à proximité des villes bordant la mer Rouge (Heinzel et al., 2014). L'hiver il redescend dans le sud du continent et niche à proximité de la région du Sahel (Johnson et al., 2010).

En ce qui concerne son habitat, son comportement et sa reproduction, ils sont identiques à ceux du Milan noir (Johnson et al., 2010).

2.2.3 / L'affaitage de ces espèces et leur détention

L'affaitage des Milans, et plus largement des rapaces, en vue de leur utilisation pour la chasse ou le spectacle, nommée volerie ou fauconnerie, est un art ancien inscrit en 2016 au patrimoine culturel immatériel de l'humanité par l'UNESCO (UNESCO, 2016). Les plus anciennes traces de fauconneries datent d'il y a 35 siècles chez les peuples Khirgizes. En Europe occidentale cette pratique prend un grand essor lors du Moyen-âge. C'est sous le règne de Louis XIII, grand fauconnier dans l'âme, que la pratique connaît son apogée et c'est à cette époque que les premiers « traités de fauconneries et d'autourseries » apparaissent. Avec le

développement des armes à feu, cette pratique perd en popularité jusqu'à être oubliée au XIX^{ième} siècle où la fauconnerie n'est plus listée dans les pratiques de chasse autorisées. Il faudra attendre la fin de la seconde guerre mondiale, pour qu'en France, la fauconnerie soit remise au goût du jour par l'Association Nationale des Fauconniers et Autoursiers Français (ANFA), dans un but de conservation de cette tradition (ANFA 2018.).

Concernant l'aspect légal, nos deux espèces de Milans sont classés en annexe II de la convention CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora), c'est-à-dire qu'elles ne sont actuellement pas menacées d'extinctions mais qu'elles pourraient le devenir si la commercialisation et la détention de ces espèces n'était pas contrôlées. Les espèces de cette annexe peuvent être détenues, reproduites et commercialisées à condition que le détenteur possède un certificat de capacité pour l'espèce concernée (Ministère de l'Environnement, de l'Energie et de la Mer, 2018). Le décret n°80-791 du 1er octobre 1980 pris pour application de l'article 276 du code rural rajoute que toute détention d'animal non-domestique se fait sous l'interdiction de tout mauvais traitement tels que :

- de priver ces animaux de nourriture et d'abreuvement.
- de laisser sans soin ces animaux en cas de maladie ou blessure.
- de les placer et de les maintenir dans un habitat trop exigü ou non adapté.
- d'utiliser des dispositifs de contention ou des cages inadaptés ou de nature à provoquer à l'animal des blessures ou des souffrances.
- d'utiliser tout aiguillon ou lame pour exciter ou faire déplacer ces animaux.

(Legifrance, 1980)

En pratique le Milan affaité peut être issu soit de l'état sauvage soit de la reproduction de deux individus déjà présents en captivité. L'Académie de Fauconnerie pratique la reproduction de Milans que nous détaillerons par la suite. Socialiser un rapace sauvage est un travail long que l'on nomme affaitage. Par suite de sa capture l'oiseau reçoit un chaperon (Photo 7), afin de le plonger dans le noir pour diminuer l'anxiété, et sera mis à jeun. A ce moment l'oiseau considère toujours l'homme comme un prédateur. L'animal est pesé quotidiennement, à l'aide d'une balance équipée d'un perchoir ou d'un bloc, jusqu'à atteindre une légère diminution de son poids qui correspond au poids de vol. Une fois ce poids atteint l'animal va être dans un état d'appétit suffisant afin de rechercher activement une source de nourriture. A ce moment le travail de désensibilisation et d'apprentissage au spectacle commence. Le fauconnier donne tout d'abord des têtes de poussins de un jour, fortement appétant, en l'air afin

de se rapprocher le plus du comportement naturel du Milan qui chasse de petites proies en vol. Progressivement le fauconnier va donner la nourriture sur son gant afin que l'oiseau puisse diminuer sa crainte de l'homme et puisse avoir un comportement de rappel. Lorsque le fauconnier considère que l'oiseau est suffisamment désensibilisé et suffisamment musclé il est introduit en spectacle avec des animaux plus vieux, habitués au spectacle, afin que le comportement de groupe finisse l'apprentissage du jeune Milan. C'est un travail long qui peut prendre au minimum 4 à 5 mois. Cet apprentissage est plus aisé pour les animaux nés en captivité que à l'état sauvage car un début de désensibilisation se fait avec les juvéniles.



Photo 7: Photo d'un rapace portant un chaperon

Photo prise par Jaqueline MACOU (<https://pixabay.com/fr/rapace-faucon-chasse-chaperon-2368751/>)

2.2.4/ L'alimentation

Comme tous les rapaces les Milans ont un régime carnivore. A l'état sauvage ils sont principalement charognard, ayant un attrait pour les poissons morts à la surface des eaux libres. Ils sont opportunistes et peuvent se nourrir de déchets (LPO, 2003). Ils peuvent cependant attraper des proies vivantes en vol, vertébrés et invertébrés, de moment qu'elles pèsent moins de 600 grammes (Palomino, 2015). Les Milans passent la majeure partie de leur temps en vol à basse altitude à la recherche de leurs proies. Certains individus ont été observés en train de dérober des proies à d'autres, voir même à patienter en grand groupe autour de feu de landes en attendant que les petits mammifères et les insectes en sortent (Johnson et al., 2010). Certains

éthologues les qualifieraient d' « oiseaux pyromanes », car ils déclencheraient volontairement ces feux de brousses en transportant des branches enflammées (Bonta et al., 2017).

En captivité la nourriture tente de se calquer au plus près de l'alimentation à l'état sauvage. Elle se compose principalement de proies entières fraîches tel que des poussins de un jour (*Gallus gallus domesticus*), des Cailles des blés (*Coturnix coturnix*) ou de Lapins domestiques (*Oryctolagus cuniculus*) (Facon et al., 2014). Il existe assez peu ressources concernant la nourriture des rapaces en captivité et chaque parc a sa propre méthode. Nous détaillerons dans les paragraphes suivant les méthodes d'alimentation des Milans par les fauconniers du Puy du Fou® en fonction du statut de l'animal et de la saison. L'ensemble des viandes utilisées pour les Milans ont été envoyé au Laboratoire CAPINOV® de Landerneau en France pour une analyse des constituants. Les valeurs sont compilées dans le Tableau 4 et montrent que les poissons ont des quantité de gras et de calories plus faible par rapport aux autres proies pour des quantités de protéines similaires (Facon et al., 2014).

Tableau 4: Analyse constitutionnelle des proies données au Milans. L'ensemble des pourcentages se basent sur le poids sec.

	Humidité (%)	Cendres (%)	Protéines (%)	Fibres (%)	Lipides (%)	Lipides (en contenue calorique, %)	Energie calculée (kcal/100g)
Oiseaux/Mammifères :							
Poussin de un jour	77,90	1,72	15,52	<0,5	4,38	38,12	103,4
Cou de Dinde	72,68	0,83	18,91	<0,5	8,81	52,85	150,0
Cœur de Bœuf	78,21	1,10	18,09	<0,5	3,31	30,00	99,3
Ragondin	78,49	1,21	19,19	<0,5	1,39	14,18	88,2
Rat musqué	73,59	1,24	21,76	<0,5	3,91	29,28	120,2
Lapin	72,46	1,04	16,6	<0,5	9,87	57,31	155,0
Moyenne	75,56	1,19	18,35	<0,5	5,28	36,96	119,4
Poissons :							
Eperlan d'Europe	83,67	2,01	13,37	<0,5	1,61	22,19	65,3
Loquette d'Amérique	76,30	3,23	17,49	<0,5	3,65	32,82	100,1
Carpe	78,35	1,34	18,1	0,71	1,50	15,22	88,7
Carcassin commun	75,65	0,96	18,29	2,69	2,41	20,54	105,6
Moyenne	78,49	1,89	16,81	NA	2,29	22,69	89,9

Tableau traduit de C. Facon et al. : Cluster of Atherosclerosis in a Captive Population of Black Kites (*Milvus migrans subsp.*) in France and Effect of Nutrition on the Plasma Lipid Profile (Facon et al. 2014).

Chapitre 3 : Les pratiques l'Académie de Fauconnerie dans la détention et l'élevage des Milans

La collection de rapaces de l'Académie du Puy-du-Fou compte en 2017, 104 Milans noirs et 25 Milans parasites. Chaque espèce se divise en deux groupes : un groupe destiné au spectacle et un groupe destiné à la reproduction. Parmi les Milans noirs 13 oiseaux servent à la reproduction et 91 pour les spectacles. Tandis que pour les Milans parasites ce sont 4 oiseaux (deux couples) qui servent à la reproduction et 21 pour le spectacle.

2.3.1/ Les pratiques de reproduction

Pour chaque espèce les oiseaux reproducteurs ont leur propre volière où les couples sont laissés libres et l'accouplement se fait de manière naturelle. Ces volières sont en terre battue. La volière des Milans noirs reproducteur mesure 800 m². Des zones de sables avec quelques branchages sont ajoutées à l'abri, afin de servir de base pour un éventuel nid. Des branchages sont rajoutés en nombre sur le sol afin de stimuler la formation du nid par le Milan. Au printemps les œufs sont récupérés et incubés par les animaliers durant 32 à 33 jours. Dès leur naissance les juvéniles sont séparés de leurs parents et sont nourris par les fauconniers afin de les désensibiliser. Le juvénile est nourri à volonté avec des viandes différentes, Caille des blés, Ragondin (*Myocastor coypus*), poussin de un jour, afin d'éveiller chez l'animal une diversité alimentaire. Lorsque l'oiseau a atteint sa taille adulte, le travail d'affaitage commence comme décrit précédemment. Les reproducteurs sont nourris tout au long de l'année en cohorte avec une ration semblable à celle des Milans de spectacle durant l'hivernage, soit l'équivalent de 160 g de viandes de mammifère ou d'oiseaux par jour et par animal (cf 2.3.2).

2.3.2/ La gestion des oiseaux de spectacle

L'activité des Milans de spectacle se divise en deux saisons, une saison estivale de représentation et une saison hivernale de repos. La saison estivale correspond à la période d'ouverture du parc qui s'étend du début du mois d'avril jusqu'à la fin du mois de septembre. Les six mois restants correspondent à la saison de repos.

Durant la saison estivale tous les Milans de spectacles sont réunis dans la volière principale de 2700m². La volière constituée d'une litière de sable avec des perchoirs, des abris et une aire de nourrissage surélevée. Les oiseaux durant cette période sont à l'attache par une

lanière reliant leur tarsometacarpe à un bloc de fauconnerie (perchoir bas et large) individuel (Photo 8). Durant cette période les oiseaux vont sortir régulièrement en vol pour le spectacle du « Bal des oiseaux fantômes », joué 5 fois par jours. Une centaine de Milans vont être sorti de concert pour un spectacle. Durant leur scène les Milans vont avoir une période de cinq minutes de vol actif. Puis ils sont laissés en liberté en haut vol, souvent accompagné par d'autres oiseaux tel que des Cigognes blanches (*Ciconia ciconia*), durant une quinzaine de minutes le temps de les rappeler. En moyenne un Milan sort 3 fois par jours, entre 2 à 5 fois selon son état, avec un jour de repos complet par semaine. Entre les spectacles les oiseaux sont nourris uniquement avec des poussins de un jour de manière individuelle au bloc. Chaque Milan reçoit trois poussins entiers par jour, approximativement 120 grammes, divisés en trois repas donnés à la fin d'une sortie. Durant le vol les oiseaux sont stimulés avec des morceaux de poussin. Ces morceaux sont donnés en l'air à toute la cohorte afin de stimuler le vol. Ils sont considérés comme des friandises et ne sont donc pas comptabilisés dans la ration de l'animal lors de la saison estivale.



Photo 8: Photo d'un Faucon pèlerin (Falco peregrinus) sur un bloc de fauconnerie

Photo prise par Dominique et Paul Mariottini (<http://dp.mariottini.free.fr/carnets/dubai/rapaces/bloc-perchoir.htm>)

A la fin de la saison de spectacle tous les Milans de spectacles sont pesés afin de déterminer un poids de rentré en volière, qui correspond approximativement au poids de vol. Les espèces sont séparées, les Milans noirs restent dans la volière principale et les Milans parasites sont déplacés dans une volière couverte de 720 m², équipée de perchoirs et d'une aire d'alimentation en hauteur. Au début de l'hivernage les blocs sont retirés et chaque espèce vie en liberté dans sa volière respective. Durant tout l'hiver les oiseaux sont laissés au repos

complet. Un mois avant la reprise des spectacles un poids de sortie de volière est mesuré et un suivi de poids est fait jusqu'à ce que l'oiseau retrouve son poids de vol. A ce moment-là l'oiseau est remis quelques semaines au vol afin qu'il soit réhabitué au spectacle et à sa musique. Durant l'hiver les oiseaux sont nourris en cohorte avec des cous de Dindes (*Melleagris gallopavo*), des cœurs de Bœufs (*Bos taurus*), des poussins de un jour, des Cailles des blés, des Lapins. Les oiseaux sont nourris une fois par semaine en groupe. En déduisant les restes chaque oiseau consomme en moyenne 160 g par jour (Facon et al., 2014). Cette nourriture de groupe est donnée sur les aires d'alimentation en hauteur afin de se rapprocher du comportement naturel du Milan qui apprécie la recherche de nourriture surélevée.

2.3.3/ La gestion commune

Pour l'ensemble des oiseaux des bassins et des bacs d'eau sont donnés pour l'abreuvement. Ces bacs sont changés une à trois fois par semaines selon leur propreté estimée par les soigneurs. Une fois par an, au début de l'automne, l'ensemble de la collection est vaccinée contre l'influenza aviaire avec une injection de « Nobilis Influenza H5N2 émulsion pour injection pour les poules ». Les traitements antiparasitaires à base d'IVOMEK (Ivermectine) sont réalisés après la réalisation d'une coproscopie de litière positive. Ces coproscopies ont lieu une fois par mois. Entre chaque saison la litière de l'ensemble des volières est désinfectée avec du TH5® (Chlorure d'acyl-diméthyl-benzyl-ammonium et Glutaraldéhyde). Puis le sol est brûlé et retourné.

Chapitre 4 : Historique du cas

Les premiers cas d'athérosclérose sont apparus sur des Milans parasites en 2008 avec une forte augmentation du nombre de cas en 2010. Les soigneurs de ces oiseaux relevaient des morts subites sans aucuns signes prémonitoires. En 2011 ce sont les Milans noirs qui sont eux aussi atteints. Des autopsies et des tests de parasitismes ont été pratiqués. Lorsque l'autopsie ne permettait pas d'établir le diagnostic ou lorsque les lésions évoquaient une pathologie cardiaque (Photo 4) un examen histologique était fait sur les artères principales, le cœur, les poumons et les autres organes de la cavité coelomique, par le Docteur Olivier ALBARIC du Laboratoire d'histopathologie animale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Ces histologies ont mis en évidence la présence de lésions d'athérosclérose avancées, entre le grade IV et VII, sur 11 animaux morts entre 2010 et 2012 parmi les 16 décès de ces trois années

Comme plus de la moitié des animaux étaient morts de cette cause, un changement alimentaire a été mis en place en Janvier 2012 uniquement sur les oiseaux de spectacle. En plus des proies déjà données la ration de la saison hivernale des Milans de spectacles inclue de la Truite commune (*Salmo trutta*), de l'Eperlan d'Europe (*Osmerus eperlanus*), de la Carpe (*Cyprinus carpio*), du Carassin commun (*Carassius carassius*), de la Loquette d'Amérique (*Zoarces americanus*), à hauteur de 40%. La quantité distribuée est donnée en sorte que chaque oiseau mange en moyenne 160 g de proie par jour, jour de jeûne inclus.

A la suite de ce changement d'alimentation le Docteur Charles FACON a analysé sur 83 Milans (noirs et parasites) le taux sanguin en cholestérol, en HDL, en LDL et en triglycérides de mars 2012 à mars 2013. Cette étude a pu :

- confirmer que l'atteinte était de l'athérosclérose avec une incidence plus élevée de rupture aortique par rapport au Psittacidés
- montrer que la mortalité était liée au mode de vie captif et que le changement alimentaire s'approchant du « régime à l'état sauvage » n'avait pas pour autant diminuer l'incidence d'athérosclérose
- montrer que les oiseaux n'étaient pas en surpoids mais qu'ils étaient sur-nourries, recevant près de 2.7 fois leurs besoins énergétiques quotidiens lors de la période hivernale avec la ration d'avant 2012.
- émettre l'hypothèse que le changement d'alimentation a eue un impact sur les taux sanguins en LDL et en HDL qui ont respectivement diminué et augmentée au bout d'un an de suivi, tandis que les valeurs de cholestérol et de triglycérides n'ont pas évolués de manières significatives
- établir entre 1,88 mmol/L et 6,80 mmol/L les valeurs de références du cholestérol pour nos deux espèces de Milans.

(Facon et al., 2014)

Le but de notre étude est donc de compléter et de prolonger jusqu'en 2017 l'étude du Dr FACON, pour tenter d'identifier des changements significatifs au bout de 5 ans.

Chapitre 5 : Les problématiques formulées

Pour essayer d'évaluer l'impact de l'alimentation sur l'incidence de l'athérosclérose, le poids et sur les paramètres biochimiques nous avons cherché à répondre à deux hypothèses :

- 1/ Est-ce que depuis le changement d'alimentation le nombre de morts dû à l'athérosclérose a significativement diminué ?
- 2/ Est-ce que le poids, l'indice corporel (IC) et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ont évolué de manière significative depuis le changement d'alimentation ?

Nous nous sommes ensuite demandé si certains paramètres pouvaient être prédictifs pour l'athérosclérose :

- 3/ Peut-on établir des facteurs de risques de l'athérosclérose pour notre population de Milans ?

Si certains paramètres, tel que ceux de l'analyse biochimiques se révélaient prédictifs, il pourrait être intéressant d'établir des valeurs de référence afin que ce paramètre puisse servir d'outil diagnostique. Nous nous sommes donc demandés :

- 4/ Peut-on établir des valeurs de références pour notre population concernant le poids, l'IC et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ?

Partie 3 : Etude expérimentale de l'impact de l'alimentation sur l'athérosclérose et sur les paramètres biochimiques liés au métabolisme lipidique

Chapitre 1 : Le matériel et la méthode

3.1.1/ La population concernée

Entre 2012 et 2017 ce sont 99 Milans noirs et 29 Milans parasites qui ont été concernés par l'étude. Chaque année, pour être inclus dans l'étude l'oiseau devait être un Milan noir ou un Milan parasite utilisé pour le spectacle ayant au moins un an. Les valeurs concernant les oiseaux morts pendant l'étude ont été gardés. Si un oiseau était né pendant l'étude, il était inclus l'année suivant sa naissance à condition d'avoir un an. Par exemple les oiseaux nés en 2015 ont été inclus dès 2016. Durant cette période 9 dates d'analyses ont été effectuées. Les effectifs détaillés pour chaque date sont présenté dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Effectives des Milans inclus dans l'étude lors de chaque date d'analyse

Date	01/03/12	23/05/12	11/10/12	19/12/12	11/12/13	08/10/15	26/01/16	01/03/17	23/10/17
Nombre de Milans noirs	53	26	27	28	60	82	37	81	79
Nombre de Milans parasites	23	16	15	15	20	17	18	18	17

Tableau personnel

3.1.2/ Le suivi de la mortalité et établissement d'un score de susceptibilité d'athérosclérose

Lorsqu'un des soigneurs constate le décès d'un animal, celui-ci est systématiquement envoyé à Labovet Conseil® des Herbiers afin de réaliser une autopsie complète. Une autopsie entière est réalisée afin d'explorer tous les organes et les systèmes de l'animal selon un protocole établis par les vétérinaires du cabinet du Réseau Cristal®, explorant tous les systèmes de l'animal. Un compte-rendu est rédigé faisant une description des lésions et présentant un diagnostic ou des hypothèses diagnostics. Un exemple de rapport d'autopsie est présenté en Annexe 1. Si l'autopsie est insuffisante pour établir un diagnostic précis, des examens

complémentaires peuvent être réalisés. Lors d'une suspicion d'athérosclérose l'examen complémentaire de choix est l'histologie, permettant d'avoir un diagnostic de certitude. Toutes les histologies ont été lues par le Docteur Olivier ALBARIC du Laboratoire d'Histopathologie Animale® de l'école ONIRIS® de Nantes. Un exemple de rapport d'histologie confirmant une athérosclérose est présenté en Annexe 2.

A partir de l'ensemble de ces rapports nous avons attribué un score allant de 0 à 3 concernant la susceptibilité de décès lié à l'athérosclérose.

- Un score de 0 était donné pour les animaux dont la cause de la mort était prouvée comme n'étant pas de l'athérosclérose. Exemple : oiseau mort d'une entérite hémorragique.
- Un score de 1 était donné lorsque la cause de la mort n'était pas expliquée et que l'athérosclérose apparaissait dans les hypothèses secondaires. Exemple : oiseau présentant une hémorragie interne avec une ascaridiose massive, il paraît plus probable que ce soit l'ascaridiose qui a provoqué l'hémorragie sans toutefois exclure l'implication de l'athérosclérose.
- Un score de 2 était donné lorsque la mort n'était pas expliquée et que l'athérosclérose apparaissait comme l'hypothèse principale. Exemple : oiseau mourant subitement présentant des lésions cardiaques sans histologie confirmant l'athérosclérose.
- Un score de 3 était donné lorsque le décès dû à l'athérosclérose était confirmé, c'est-à-dire qu'une histologie était réalisée et qu'elle mettait en évidence des lésions d'athéroscléroses avancées. Exemple : histologie décrivant des lésions de type VII sur un animal mort subitement présentant à l'autopsie une dilatation de l'aorte.

Entre 2001 et 2017, soixante-cinq Milans sont décédés. Pour chaque décès un rapport d'autopsie a été fourni et un score, estimant la susceptibilité d'athérosclérose, a pu être établi pour chacun des animaux.

3.1.3/ Mesure du poids

Le poids de chaque animal est mesuré et enregistré depuis 2013 grâce à une balance pour animaux donnant une valeur au gramme près. L'unité de mesure de cette valeur correspond à celle du système international, le gramme (g). Deux suivis de poids sont réalisés depuis 2013 un pendant la saison hivernale et un pendant la saison estivale. Tous les animaux sont systématiquement pesés lors de la sortie de l'hivernation et lors de l'entrée en hivernation (équivalent du poids de vol). Pour les oiseaux nés durant l'année le poids de sortie de l'hivernation correspond au poids atteint à la fin de la croissance. Pendant l'hiver les oiseaux ont été pesés lors qu'ils étaient manipulés en vue d'un prélèvement sanguin ou pour un soin

collectif. Les animaux de l'étude ont été pesés : le 19 décembre 2012, le 13 mars 2013, le 11 décembre 2013, le 26 janvier 2016 et le 23 octobre 2017. Pendant la saison estivale chaque animal est pesé une fois par mois entre les spectacles. Notre étude regroupe l'ensemble des données de poids c'est-à-dire : les poids inter-saisonniers, les poids mesurés durant l'été et les poids mesurés durant les prélèvements et représentent un total de 2514 valeurs.

3.1.4/ Mesure de la longueur de métatarse

Le 23 octobre 2017, la longueur du métatarse a été mesurée pour les 96 Milans suivis. Cette mesure était prise à l'aide d'un pied à coulisse digital, mesurant la longueur en centimètres et précise au dixième de millimètre. Avant la mesure le pied à coulisse est ouvert sur un espace supérieur à la taille du métatarse de l'oiseau. Il faut ensuite placer la partie fixe du pied dans le sillon de l'articulation tibiotarso-metarsienne et plier vers l'avant les phalanges avec un angle de 90° par rapport au métatarse. La partie amovible du pied à coulisse s'appose au niveau de l'articulation phalango-metatarsienne (FAO, 2010).

Malgré une mesure en fin d'étude nous avons émis l'hypothèse que la valeur de la taille du métatarse était applicable rétrospectivement car les oiseaux inclus avaient fini leur croissance.

3.1.5/ Calcul de l'indice corporel

Pour un suivi individuel de l'état d'embonpoint le poids est une mesure suffisante mais qui ne l'est plus lorsqu'il s'agit de comparer plusieurs individus. En effet un animal plus grand aura logiquement une masse plus élevée sans pour autant être en surpoids. Afin de pouvoir mesurer cet état d'embonpoint des outils mathématiques mettant en relation le poids et une mesure de taille existent. Le plus connue est l'indice de masse corporelle (IMC) chez l'homme qui correspond au poids divisé par le carré de la taille.

Cet outil est encore controversé par certains auteurs à cause de sa simplicité et ne s'applique pas aux animaux. A ce jour le meilleur outil de mesure de l'indice corporel (IC) pour les oiseaux est la méthode de l'indice de masse échelonné (IME) selon le modèle d'échelonnage de Thorpe-Lleonart (TL). Cette méthode a été testé sur des étourneaux (Sturnidés) et a été validée pour estimer l'IC à partir de leur poids et de la longueur de leur métatarse (Peig, Green, 2009).

Pour calculer l'IC d'un Milan selon la méthode de l'IME il faut appliquer la formule suivante :

$$IC_i = M_i * \left(\frac{\bar{L}}{L_i}\right)^{b_{APS}}$$

Avec pour un individu i , M_i sa masse, L_i la longueur de son métatarse, \bar{L} la moyenne des longueurs de tarse de notre population étudiée et b_{APS} le facteur de corrélation estimé selon la méthode de l'axe principal standard (APS). L'obtention du facteur b_{APS} est présenté en Annexe 3 (Peig, Green, 2009). Avec nos données $\bar{L}=67,4056548$ mm et $b_{APS}=2,6855307$.

3.1.6/ La méthode de prise de sang et du dosage sanguin du cholestérol, des triglycérides et des HDL

Lors des neuf dates d'analyses présentées dans le Tableau 5 l'ensemble de l'effectif des deux espèces a reçu une prise de sang afin de pouvoir doser le cholestérol, les triglycérides et les HDL sanguins.

La prise de sang se réalise sur des oiseaux préalablement à jeun de la veille. L'oiseau était contenu par le fauconnier en décubitus dorsal et la prise de sang était réalisée par un vétérinaire. Au niveau de l'articulation radio-humérale de l'alcool à usage médical était versé enfin d'écarter les plumes et mettre en évidence la veine alaire. Si nécessaire l'articulation pouvait être déplumée. Une compression de la veine est réalisée au niveau de l'humérus de l'oiseau. A l'aide d'une seringue de 2 mL montée avec une aiguille de 25 gauges la veine est cathétérisée et 2 mL de sang sont prélevés de manière progressive afin d'éviter toute coagulation. La compression était ensuite levée, l'aiguille retirée et une seconde compression était réalisée durant 30 secondes au niveau du point de prélèvement. En retirant l'aiguille le sang est immédiatement versé dans un tube sec. Si le volume est insuffisant lors de la première prise, le protocole peut être réitéré sur la seconde aile afin d'atteindre un volume de 2 mL.

A la fin de la séance de prélèvement l'ensemble des tubes secs étaient acheminés au Laboratoire Sèvre Biologie de Mortagne-sur-Sèvre en France. Dans les heures qui suivent, le laboratoire avait centrifugé les prises de sangs et à l'aide d'un automate « AU 680 BECKMAN COULTER » il avait dosé sur sérum la concentration en cholestérol, en triglycérides et en HDL. Cet automate utilise une méthode de dosage colorimétrique pour obtenir ces valeurs. La quantité de HDL est mesurée à travers la quantité de cholestérol présent dans les HDL. Les valeurs obtenues par le laboratoire étaient données en g/L.

Durant la période d'étude 642 prélèvements ont été analysés.

3.1.7/ L'estimation de la concentration sanguine de VLDL et de LDL par la méthode de FRIEDEWALD

Le laboratoire ne disposant pas d'automates pouvant doser directement la concentration de LDL et de VLDL dans le sang, ceux-ci doivent être estimés par calcul à partir du cholestérol, des triglycérides et du HDL. Ces méthodes d'estimation ont été étudiées chez l'homme en 1972 par le Professeur FRIEDEWALD et portent donc son nom. C'est la seule méthode permettant d'estimer les valeurs de VLDL et de LDL, à travers le cholestérol contenu dans ces globules, lorsque les dosages directs sont indisponibles.

L'équation de FRIEDEWALD estime que le cholestérol contenu dans les VLDL en g/L correspond au cinquième des triglycérides totaux à condition que la concentration en triglycérides soit inférieure à 4 g/L. Pour estimer le cholestérol des LDL l'équation de FRIEDEWALD considère que l'ensemble du cholestérol est réparti entre les LDL, les HDL et les VLDL et donc que le cholestérol des LDL peut être calculé par :

$$LDL_{Chol} = Chol_{tot} - HDL_{Chol} - VLDL_{Chol} = Chol_{tot} - HDL_{Cho} - \frac{Trig}{5}$$

Cette formule est en g/L et elle est applicable si la concentration en triglycéride est inférieure à 4 g/L.

(Friedewald et al., 1972)

Durant la période d'étude le cholestérol des VLDL et des LDL ont pu être estimés sur 628 prélèvements.

3.1.8/ Les logiciels servant à l'analyse descriptive et statistique

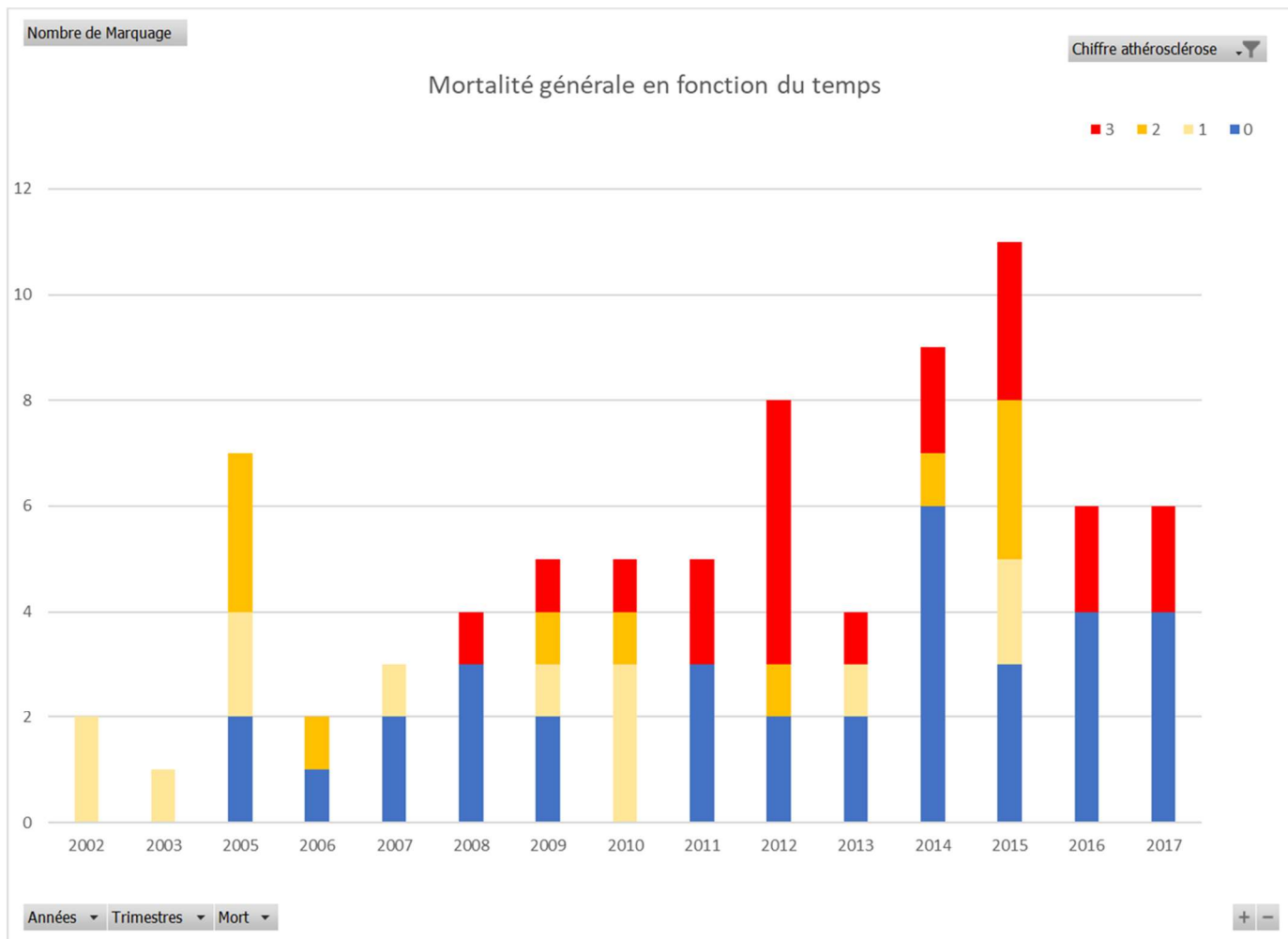
Pour l'analyse descriptive nous avons utilisé le logiciel Excel[®] du pack Office 365 de 2013 et pour l'analyse statistique des données nous avons utilisé le logiciel R[®] (R development core team [2012]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org/>; avec $\alpha=0,05$ pour la significativité).

Chapitre 2 : La compilation des données et l'analyse descriptive des valeurs

Pour chacune des valeurs de poids, tarse, IC, cholestérol, triglycérides, HDL, LDL et VLDL mesurées ou calculées nous avons attribué la date d'enregistrement de la donnée, le nom du paramètre, le nom de l'animal, son numéro d'identification, son sexe (mâle ou femelle), son espèce (Milan noir ou Milan parasite), sa date de naissance et si l'animal était toujours vivant au 1^{er} janvier 2018 son âge et sinon son âge de décès, la référence de son dossier d'autopsie et

le score de susceptibilité de décès par athérosclérose. L'ensemble de ces informations ont été enregistrées dans le logiciel EXCEL® (version Office 365). Un extrait de ce tableau est présenté en Annexe 4. La fonction « tableau croisé dynamique » de ce tableur nous a ensuite permis de voir si des tendances se dégagent de ces données.

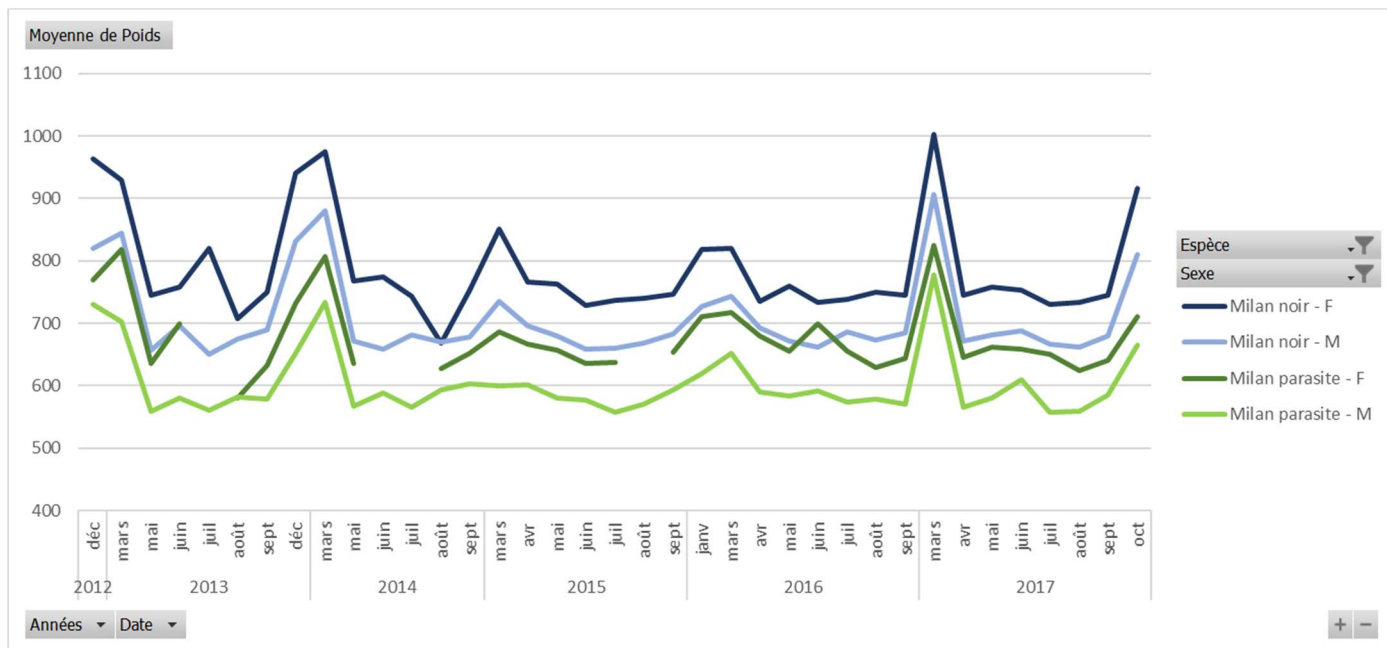
Si on s'intéresse à la mortalité on remarque que celle-ci est variable d'une année à l'autre et que les premiers cas certains d'athérosclérose sont apparus en 2008. Avant 2008 des décès douteux (score 1 et 2) sont présents et pourraient être des cas d'athérosclérose non explorés à cause de l'absence de connaissance de la maladie sur le Milan à cette époque. A partir de 2016 plus aucun cas douteux n'est diagnostiqué et pourrait être le signe d'une recherche systématique de l'athérosclérose par histologie en cas de doute à la nécropsie. Si on considère les cas certains (score 3) l'année 2012 est l'année la plus meurtrière avec 6 Milans décédés, en rajoutant les cas douteux les années 2005, 2010, 2012 et 2015 sont les plus meurtrières avec respectivement 5, 5, 6 et 7 cas recensés (Graphique 1).



Graphique 1 : Histogramme du nombre de Milans décédé par année et par cause

Schéma personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

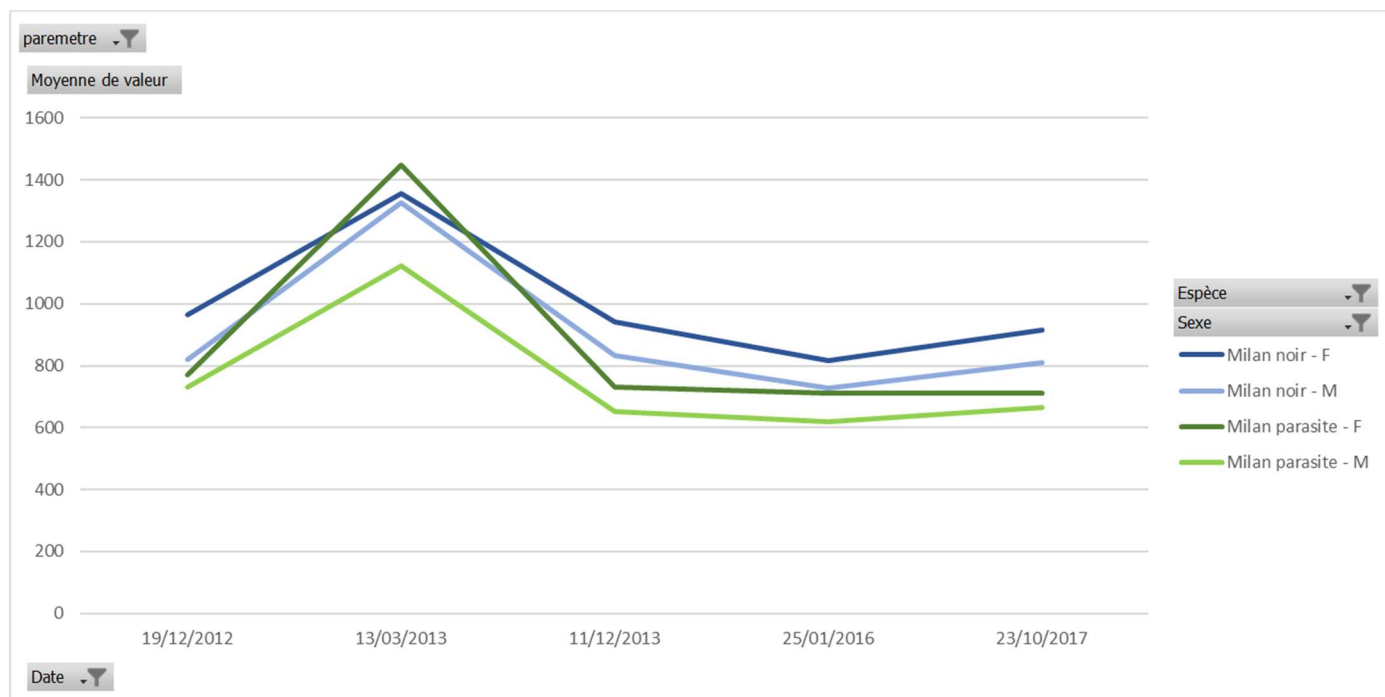
En ce qui concerne les données sur le poids des animaux on remarque que l'évolution du poids est semblable au fil des années quel que soit l'espèce ou le sexe. Il est important de remarquer que chaque année le poids au mois de mars est sensiblement plus élevé que les poids des autres mois. Ce poids correspond au poids de sortie de volière à la fin de l'hivernage et il semble logique qu'il soit plus élevé. De plus les poids mesurés pendant l'hivernage (octobre 2012, mars 2013, décembre 2013, janvier 2016 et octobre 2017) semblent plus élevés que les valeurs prise lors de la saison estivale. On peut aussi noter que les Milans noirs sont en moyenne plus lourd que les Milans parasites et que les femelles plus lourdes que les mâles (Graphique 2).



Graphique 2: Graphique de la moyenne du poids (en g) des animaux en fonction du mois et de l'année : les Milans noirs sont représentés par un trait bleu et les Milans parasites par un trait vert. Les traits foncés représentent les femelles et les clairs les mâles.

Schéma personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

Si on ne s'intéresse qu'aux poids pris pendant l'hiver, c'est-à-dire pendant les dates de prélèvements, on remarque qu'il y a une hausse le 13/03/2013 qui correspond au seul prélèvement pris en sortie d'hivernage. Hormis ce pic les différences de poids sont plus modérées et il semblerait que les animaux, espèces et sexes confondus, seraient plus légers à partir du 11/12/2013 par rapport au 19/12/2012 avec un minimum pour le 25/01/2016 (Graphique 3).

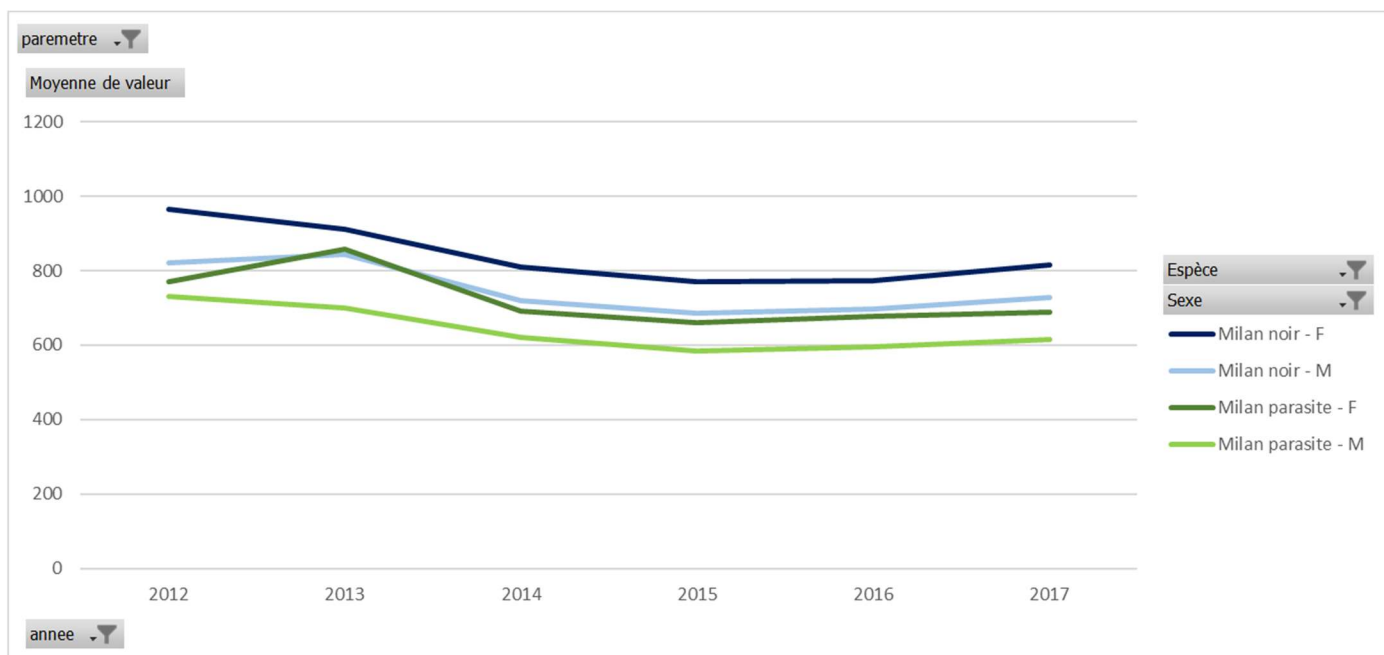


Graphique 3 : Graphique de la moyenne du poids (en g) des animaux lors des différentes dates de prélèvements hivernaux.

Schémas personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

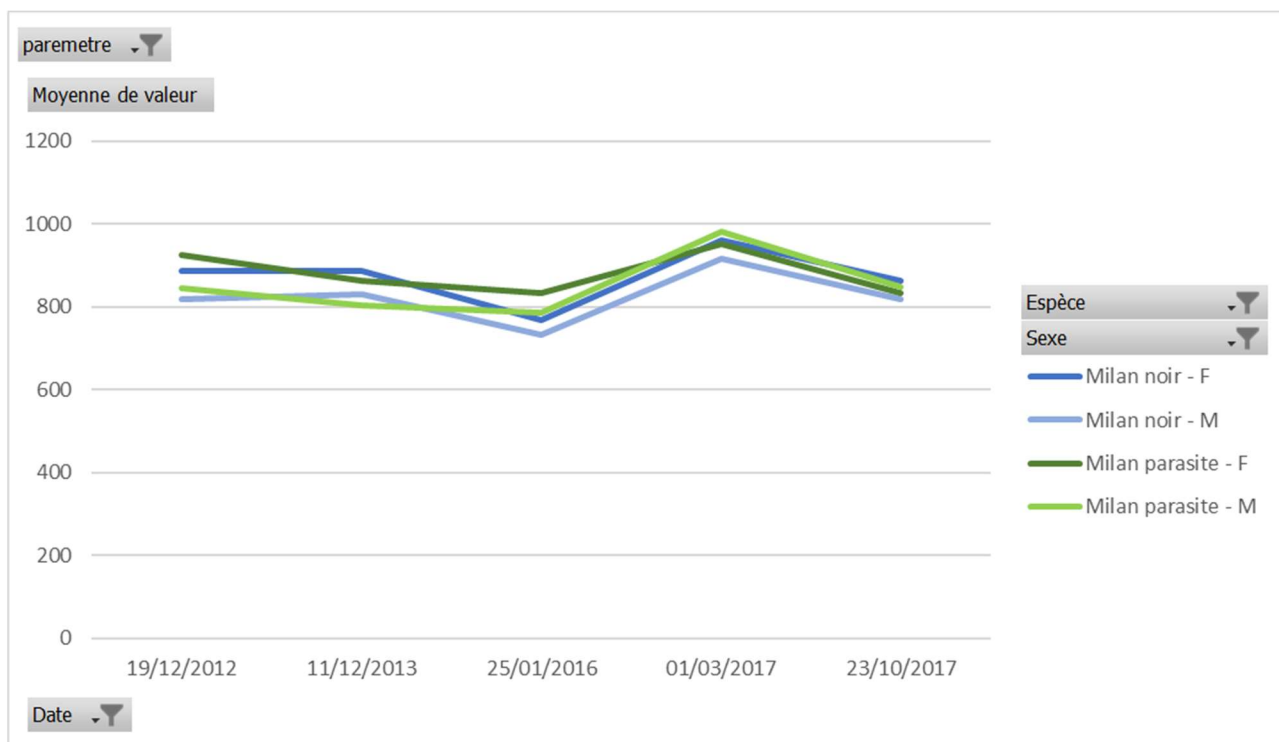
Si on calcul les moyennes annuelles du poids on remarque moins d'écart entre les différentes espèces et les différents sexes. De 2012 à 2015 on remarque une décroissance des valeurs à l'exception des Milans parasites femelles qui présentent une hausse du poids en 2013 suivit d'une décroissance en 2014. A partir de 2015 et jusqu'à 2017 les moyennes pour nos quatre groupe raugmentes légèrement (Graphique 4).

En se penchant sur l'IC, en commençant par ceux calculés à partir des poids des dates de prélèvements, on remarque que les variations ne sont pas les mêmes. On remarque tout d'abord que les variations entre les espèces et les sexes sont beaucoup moins marquées que celles du poids. Cela souligne l'importance de prendre en compte la taille de l'animal lorsque l'on veut estimer un état d'embonpoint et que le poids seul ne suffit pas. De plus on remarque une décroissance des valeurs de 2012 jusqu'à 2016 pour ensuite fortement augmenter en mars 2017 pour diminuer en octobre 2017 (Graphique 5).



Graphique 4 : Graphique de la moyenne du poids (en g) des animaux lors des différentes années.

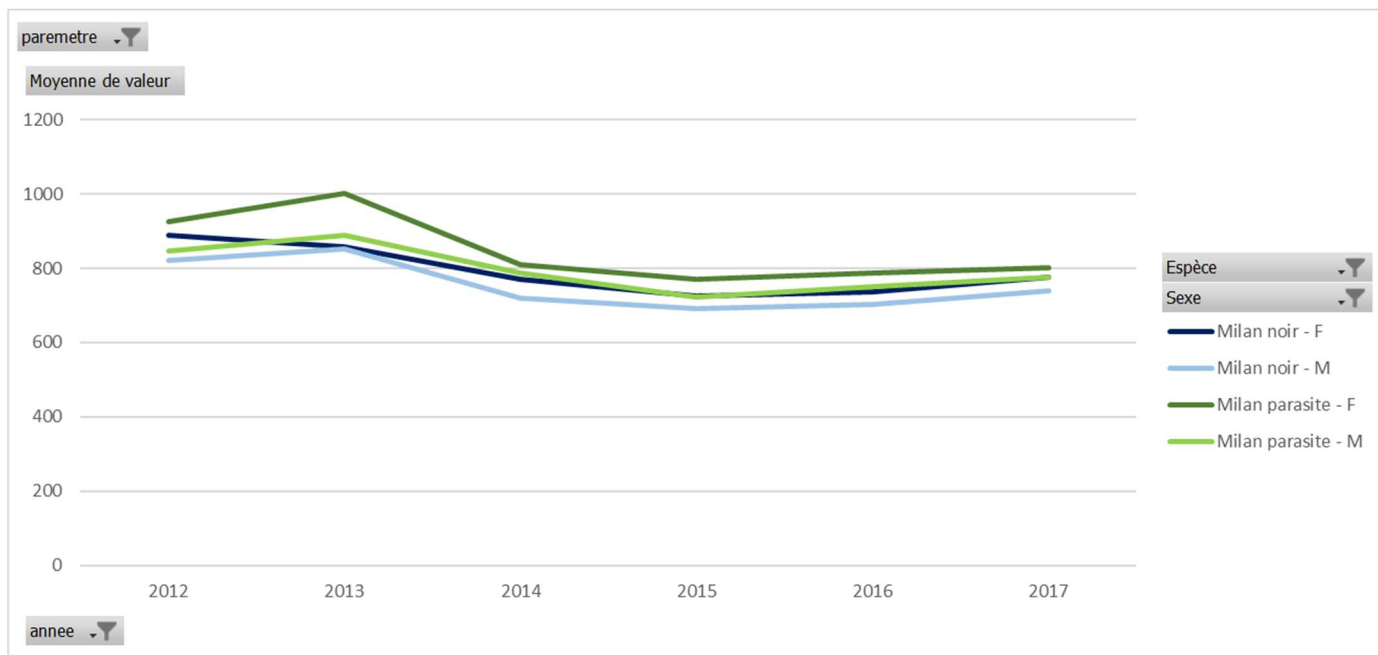
Schémas personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®



Graphique 5 : Graphique de la moyenne de l'indice de corporelle (en g) des animaux lors des différentes dates de prélèvements.

Schémas personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

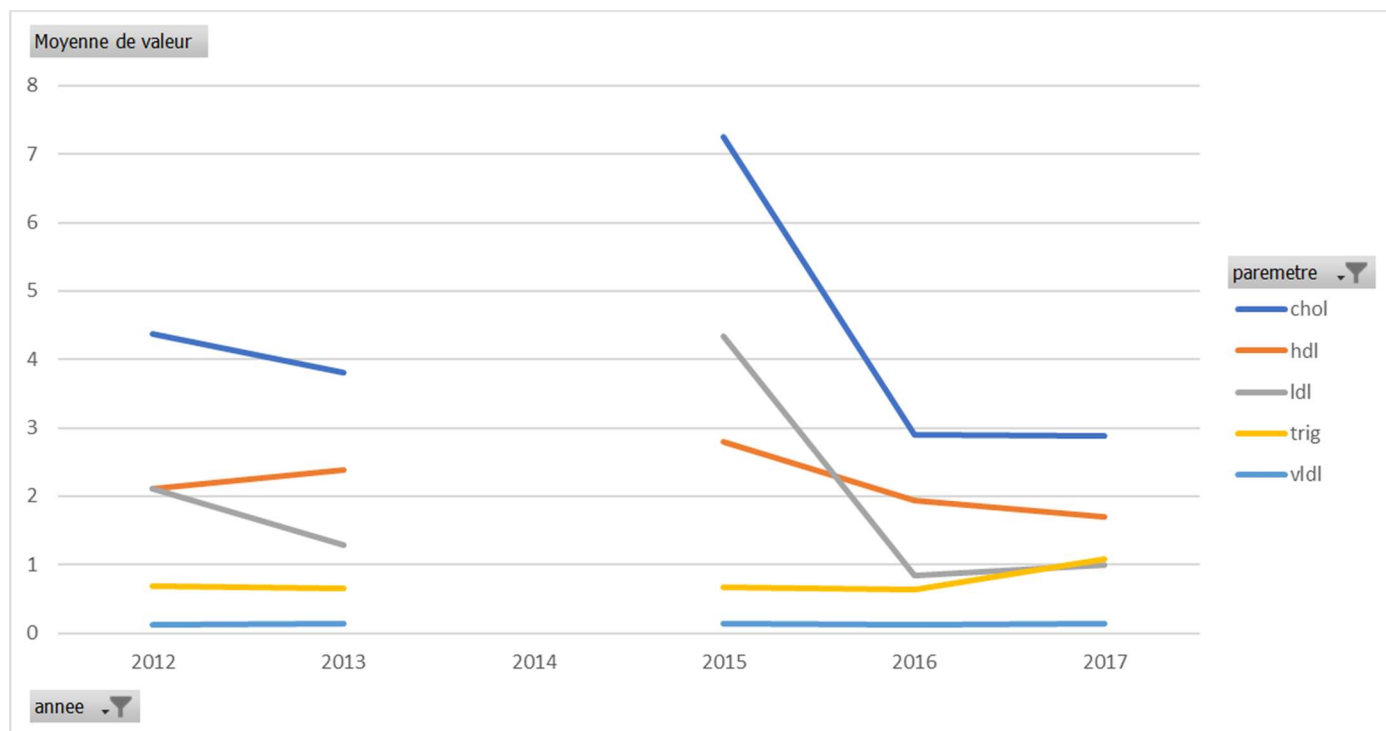
En étendant l'étude de l'IC sur toutes les valeurs de poids disponibles et en faisant des moyennes annuelles on remarque toujours une certaine homogénéité des valeurs suivant les espèces et le sexe. On remarque cependant deux niveaux de valeurs : un niveau haut pour 2012 et 2013 et un niveau plus bas pour 2014, 2015, 2016 et 2017 avec une légère augmentation de 2014 à 2017 (Graphique 6).



Graphique 6 : Graphique de la moyenne de l'indice de corporelle (en g) des animaux lors des différentes années.

Schémas personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

Si on regarde les paramètres sanguins on remarque tout d'abord pour le cholestérol une décroissance des valeurs de 2012 à 2013 puis une forte hausse en 2015 pour ensuite diminuer en 2016 et 2017 sur des valeurs plus basses qu'en 2012 et 2013. Si on regarde le taux de HDL on remarque que celui-ci augmente de 2012 jusqu'en 2015 pour ensuite diminuer en 2016 et 2017. Pour les triglycérides la valeur semble avoir peu de variation sauf en 2017 où les triglycérides augmentent nettement. L'évolution du taux de VLDL est semblable à celui des triglycérides à l'exception de l'augmentation de 2017 absente. Cela est sûrement lié à l'impossibilité de calculer une valeur de VLDL pour les valeurs de triglycérides supérieures à 4 g/L. Enfin si on s'intéresse à l'évolution des LDL celle-ci est identique à l'évolution du cholestérol (Graphique 7).



Graphique 7: Graphique de la moyenne annuelle de la concentration en cholestérols (chol.), en triglycérides (trig.), en HDL, en LDL et en VLDL (en g/L).

Schémas personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

On remarque ainsi avec cette étude descriptive qu'il existe des variations de nos différentes valeurs mesurées. A l'aide des outils biostatistiques nous allons maintenant tenter de savoir si ces différences observées ont un sens et répondent à nos problématiques, ou si elles sont dues au hasard.

Chapitre 3 : Réponse aux problématiques à l'aide des outils biostatistiques

3.3.1 // Est-ce que depuis le changement d'alimentation le nombre de morts dû à l'athérosclérose a significativement diminué ?

Pour répondre à cette question nous avons repris l'ensemble des effectifs des Milans décédés de la collection et nous avons séparés les animaux décédés avant le changement d'alimentation (de 2008 à 2011) aux animaux décédés après de le changement d'alimentation (de 2012 à 2017). Dans ces deux groupes nous avons séparés les effectifs en décès qui n'étaient pas dû à l'athérosclérose (score de 0), à ceux qui étaient dû à l'athérosclérose (score de 3) et à ceux qui étaient douteux (score 1 et 2). Ces effectifs sont regroupés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Tableau des effectifs des animaux décédés avant et après le changement d'alimentation selon les différents scores.

	Score 0	Score 1 & 2	Score 3
Avant janvier 2012	7	14	5
Après janvier 2012	11	4	16

Tableau personnel.

Pour savoir si dans ce tableau nous avons des différences significatives entre les scores avant et après le changement d'alimentation nous avons appliqué le test du Khi^2 d'homogénéité ou test de Pearson (Ancelle, 2008). A l'aide du logiciel R[®] nous avons appliqué ce test sur la table précédente qui nous renvoi une p-valeur = 0,00266 (<0,05). Il y a donc une différence significative dans ce tableau. Pour savoir où se situe cette différence nous appliquons le test de Fisher exact (Ancelle, 2008) en comparant 2 à 2 les colonnes (pairwise comparaison). Ce test nous donne une p-valeur = 0,06137 entre ceux qui ne sont pas mort d'athérosclérose et les douteux, une p-valeur = 0,4877 entre ceux qui sont mort d'athérosclérose et ceux qui ne le sont pas et une p-valeur = 0,003696 (<0,05) entre ceux qui sont mort d'athérosclérose et les douteux. Il y a donc une différence d'effectifs significatifs entre les cas douteux et les cas certains d'athérosclérose avant et après le changement d'alimentation.

3.3.2/ Est-ce que le poids, l'indice corporel (IC) et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ont évolué de manière significative depuis le changement d'alimentation ?

A partir de 2012 nous avons calculé une moyenne annuelle pour chaque paramètre en fonction de l'espèce et du sexe. Par la suite nous avons établi une table d'ANOVA (Analyse of Variance) sur les logarithmes des valeurs pour savoir si les moyennes pour chaque facteur étaient significativement différentes (p-valeur < 0,05). Les détails de l'interprétation des tables d'ANOVA sont présentés en Annexe 5.

Pour le poids et pour l'IC les moyennes les interactions entre les trois facteurs (année, sexe et espèces) ne sont pas significatives, les moyennes entre les sexes et les espèces sont significativement différentes et les moyenne par année sont significativement différente entre : 2012/2014, 2012/2015, 2012/2016, 2012/2017, 2013/2014, 2013/2015, 2013/2016, 2013/2017, 2015/2017 et 2015/2016.

Pour le taux sanguin en cholestérol la moyenne selon l'espèce est significativement différente et l'interaction entre le sexe et l'année est significative et avec le graphique des interactions on ne peut pas interpréter les facteurs individuels seuls (Annexe 5). Si on compare deux à deux (pairwise comparaison) les moyennes pour chaque année en séparant les deux sexes, on trouve pour chaque une différence significative entre : 2015/2012, 2012/2016, 2012/2017, 2013/2015, 2013/2017, 2015/2016, 2015/2017.

Pour le taux sanguin en HDL l'interaction entre l'année entre l'espèce et l'année est significative mais le graphique de l'interaction nous permet d'interpréter les facteurs indépendamment. Sur les facteurs pris indépendamment les moyennes ne sont pas significativement différentes pour le sexe mais le sont pour l'espèce et pour les années : 2012/2013, 2012/2015, 2012/2016, 2012/2017, 2013/2015, 2013/2016, 2013/2017, 2015/2016, 2015/2017.

Pour le taux sanguin en triglycéride l'interaction entre l'espèce et l'année est significative mais le graphique de l'interaction nous permet d'interpréter les facteurs indépendamment. Sur les facteurs pris indépendamment les moyennes entre les sexes, l'espèce et entre l'année 2012 et 2017 ressortent significativement différentes.

Pour le taux sanguin en VLDL l'interaction entre l'espèce et l'année est significative mais le graphique de l'interaction nous permet d'interpréter les facteurs indépendamment. Sur les facteurs pris indépendamment les moyennes entre les sexes, l'espèce et entre l'année ressortent globalement différentes. Cependant si on utilise la comparaison 2 à 2 sur les années aucune paire ne ressort avec une différence significative. On peut cependant noter que la différence de moyenne entre 2012 et 2013 ressort avec une p-valeur = 0,0653091 ce qui est plutôt à la limite de la significativité.

Enfin pour le taux sanguin en LDL l'interaction entre l'année et le sexe et son graphique ne nous permettent pas d'interpréter les valeurs individuelles qui présentent des moyennes significativement différentes que pour le facteur année. Si on compare deux à deux la moyenne annuelle en séparant les sexes on trouve pour les deux sexes une différence significative entre : 2012/2013, 2012/2015, 2012/2016, 2012/2017, 2013/2015, 2015/2016, 2015/2017.

3.3.3/ Peut-on établir des facteurs de risques de l'athérosclérose pour notre population de Milans ?

Nous avons cherché à savoir si nous pouvions identifier des facteurs de risques dans notre population étudiée. Cette recherche s'est faite sur 10 paramètres : le sexe, l'espèce, l'âge, le poids, l'IC, le cholestérol, les triglycérides, les HDL, les LDL et les VLDL.

Nous avons donc établi une enquête « cas – témoin » en incluant dans les cas les oiseaux morts d'athérosclérose certaine (score de 3) et dans les témoins les oiseaux vivants. Nous avons ensuite déterminé le rapport des côtes d'expositions des cas par rapport aux témoins. Ce rapport se nomme l'« odds ratio » (OR). Si l'OR est supérieur à 1 alors le paramètre est un facteur de risque et si l'OR est inférieur à 1 alors le paramètre est un facteur protecteur. Pour nos deux paramètres binaires (sexe et espèce) un OR de valeur X signifie qu'un groupe à X fois plus de chances de déclarer la maladie que l'autre groupe. Pour les autres paramètres quantitatifs un OR égal à X signifie que lorsque que le paramètre augmente d'une unité alors l'animal a X fois plus de chance de déclarer la maladie (Ancelle, 2008).

A l'aide du logiciel R[®] nous avons calculés ces OR ainsi que son intervalle de confiance à 95%. En effet pour qu'un paramètre soit un facteur de risque ou un facteur protecteur certain, cet intervalle de confiance doit rejeter la valeur 1. Les OR et leurs intervalles de confiances sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Tableau regroupant les OR et leur intervalle de confiance à 95% pour nos 10 paramètres étudiés. Les paramètres dont l'OR est significatif sont surlignés en gras.

Paramètre	OR	Intervalle 95%
Espèce (Milans Parasites par rapport aux Milans Noirs)	2,16236842	[1,38959257 ; 3,30555634]
Sexe (mâles par rapport aux femelles)	0,14050289	[0,07046855 ; 0,25329666]
Age (années)	1,18370638	[1,128122281 ; 1,242557906]
Poids (/100g)	1,218656169	[1,117638730 ; 1,31604426]
IC (/100g)	1,08893742	[0,939774227 ; 1,21724695]
Cholestérol (g/L)	1,17044477	[0,99202530 ; 1,353228251]
Triglycérides (g/L)	1,08163668	[0,85975213 ; 1,2393441]
HDL (g/L)	1,0159253	[0,509912077 ; 1,962736]
LDL (g/L)	1,24429950	[1,02575922 ; 1,47578026]
VLDL (0,1 g/L)	0,4838242	[0,15585564 ; 1,1099973]

Tableau personnel.

3.3.4/ Peut-on établir des valeurs de références pour notre population concernant le poids, l'IC et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ?

À la suite de l'identification des facteurs de risques nous avons ensuite cherché à savoir si on pouvait déterminer des valeurs de références pour nos sept variables quantitatives continues.

Pour chaque paramètre, on a appliqué le test de Shapiro, avec le logiciel R[®], pour vérifier si le paramètre suit une répartition normale. Nous obtenons à chaque fois une p-valeur inférieure à 0,05, ce qui rejette l'hypothèse d'une répartition normale. En rejetant les valeurs aberrantes, la p-valeur reste inférieure à 0,05 pour les sept paramètres. La méthode de rejet des valeurs aberrantes est décrite en Annexe 6.

Ainsi nous ne pouvons pas appliquer la formule $x \in \bar{x} \mp 1,96 * \sqrt{\frac{n+1}{n}} * \text{écart type}$, avec x le paramètre étudié, \bar{x} sa moyenne, n le nombre de données pour notre paramètre. En effet cette formule, permettant de déterminer l'ensemble où 90% de nos valeurs sont incluses, n'est applicable que pour les paramètres suivant une loi normale.

Cependant les valeurs du quantile 5% et du quantile 95% de notre paramètre, tendent vers les valeurs bornes de l'ensemble de référence si n tend vers l'infini. Ainsi plus la valeur de n est grande plus cette méthode non paramétrique utilisant les quantiles est une bonne estimation de notre intervalle de référence. L'ensemble des quantiles 5% et 95% de chaque paramètre accompagné du nombre de valeurs étudiées sont donnés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Tableau regroupant les quantiles 5% et 95% de nos sept paramètres étudiés.

Paramètre	Nombre de valeurs	Quantile 5%	Quantile 95%
Poids (g)	2514	590	980
IC (g)	2514	585,15	968,60
Cholestérol (g/L)	642	2,27	7,73
Triglycérides (g/L)	642	0,33	1,31
HDL (g/L)	642	1,32	3,12
LDL (g/L)	628	0,584	4,992
VLDL (g/L)	628	0,066	0,218

Tableau personnel.

Partie 4 : Interprétation discussion

Chapitre 1 : Interprétation des résultats des quatre problématiques

4.1.1/ Est-ce que depuis le changement d'alimentation le nombre de morts dû à l'athérosclérose a significativement diminué ?

Les résultats obtenus nous montrent que le changement d'alimentation n'a pas engendré de modifications dans le nombre de morts dus à l'athérosclérose par rapport aux autres causes. Cependant on peut dire qu'il y a une évolution significative entre les cas certains et les cas douteux. Cela vient du fait que depuis 2012, où on a commencé à étudier cette maladie, le diagnostic s'est amélioré. En effet avant 2012 les cas douteux représentent 54% des morts totaux contre 13% après et pour les cas certains on passe de 19% du total à 51%. On voit donc qu'après 2012 la mortalité due à l'athérosclérose n'a pas diminué mais augmenté à cause d'un meilleur diagnostic. De plus la p-valeur proche de 0,05 du groupe douteux comparé au groupe n'étant pas atteint d'athérosclérose vient conforter cette explication.

Ces résultats ne sont pas dénués de sens. En effet que ce soit chez le perroquet ou chez l'homme on a vu que une fois les stades lésionnels avancés atteints, la maladie n'était pas réversible (TOUSSAINT et al., 2003) (Beaufrere, 2013) ou qu'elle pouvait l'être exceptionnellement, mais à condition que l'individu suive une régime alimentaire hypocalorique sur le long terme (TOUSSAINT et al., 2003). Si on regarde la date de naissance de l'ensemble de nos animaux morts d'athérosclérose de façon certaine le plus jeune animal était né en 2010 pour mourir en 2013. Tous les animaux morts d'athérosclérose ont ainsi connu au moins 2 ans de l'ancienne alimentation. Si on part du principe que l'espérance de vie de l'homme est aux alentours de 80 ans (INSEE, 2016) et que celle de notre population (moyenne de l'âge des morts) est de 8 ans alors on peut estimer que un an de vie de Milan équivaldrait à 10 ans de vie humaine. Or on sait que chez l'homme les premières lésions avancées peuvent apparaître dès l'âge de 15 ans (TOUSSAINT et al., 2003) et donc on peut supposer que 2 ans de mauvaise alimentation, si celle-ci joue un rôle dans l'athérosclérose, suffise chez le Milan pour faciliter l'apparition de lésions avancées.

Du fait de l'absence de réversibilité de la maladie il serait plus intéressant de comparer la mortalité des animaux ayant connu l'ancien régime d'une part et ceux né après 2011 qui n'ont connus que la nouvelle alimentation à l'âge adulte (1 an après). Or parmi les animaux décédés seulement deux animaux n'ont jamais connu l'ancienne alimentation en étant nés en 2014. Pour ces deux animaux il a été établi que leur mort n'était pas due à l'athérosclérose (score de 0). Le

manque d'animaux décédés nés après 2011 ne nous permet pas encore d'avoir assez de recul sur l'évolution de la maladie entre ces deux groupes mais d'ici quelques années une réponse pourra éventuellement être donnée. Cependant les perspectives semblent bonnes car nous pouvons dire que pour le moment dans les animaux nés après 2011 aucun n'est mort d'athérosclérose

4.1.2/ Est-ce que le poids, l'indice corporel (IC) et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ont évolué de manière significative depuis le changement d'alimentation ?

En ce qui concerne le poids on a donc un effet espèce et sexe et pour les années on peut séparer d'un côté les moyennes de 2012 (846,5g) et 2013 (860,7 g) et de l'autre côté celles de 2014 (741,3 g), 2015 (710,7 g), 2016 (718,5 g) et 2017 (755,0 g). On remarque sur le Graphique 4 que le poids est plus élevé dans le premier groupe que dans le second et on peut donc conclure partir de 2014 il y a une baisse significative du poids des animaux. De plus comme la moyenne de 2015 est plus basse et significativement différente de celle de 2016 et de 2017 alors on peut dire que le poids a ré-augmenté de façon significative. Le constat est totalement identique pour l'IC concernant la significativité et l'évolution des valeurs (Graphique 6). Ainsi deux après le changement d'alimentation on a eu une amélioration significative du poids des animaux lié à une amélioration de leur IC puis à partir de 2015 il y a eu une dégradation du poids toujours dû à une augmentation de l'IC tout en restant à des niveaux plus bas que ceux de 2012 et 2013.

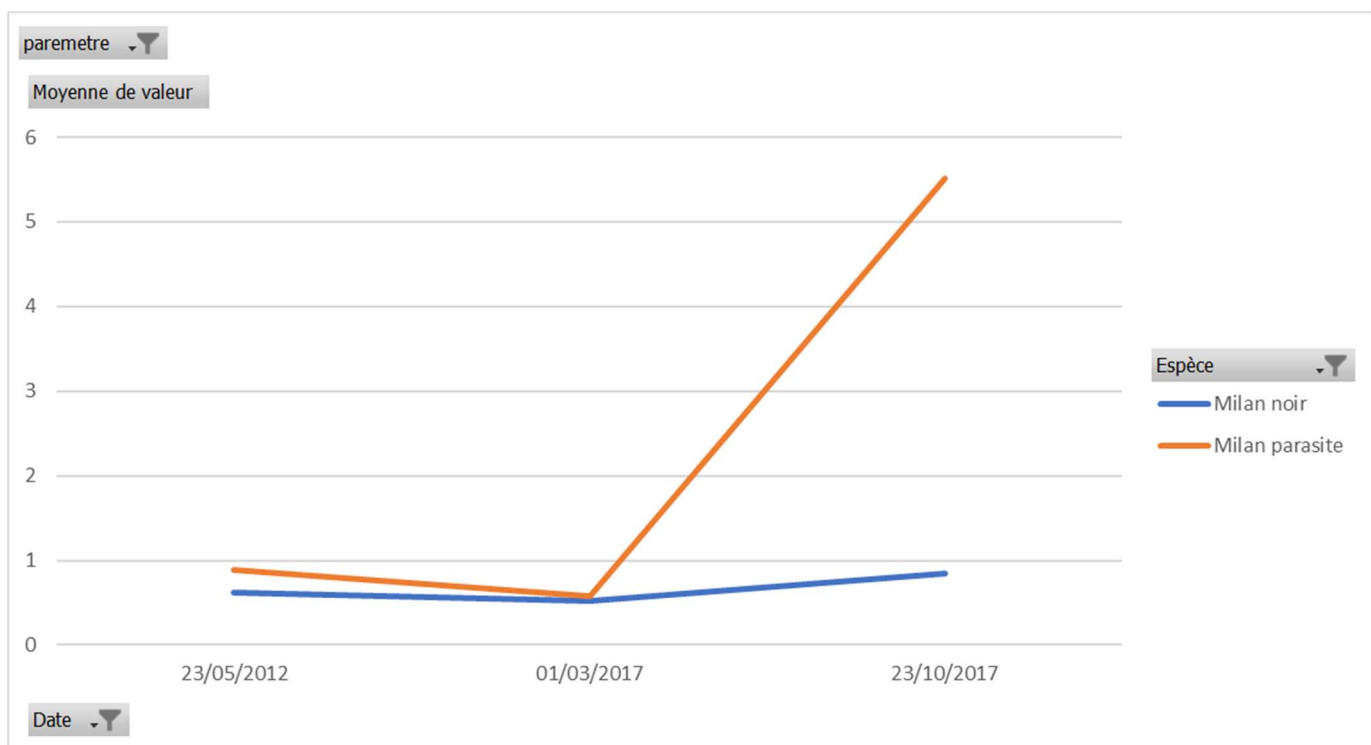
Pour le cholestérol on a un effet sexe et un effet espèce significatif et pour les années on peut différencier trois groupes où les moyennes sont significativement différentes entre elle : d'une part les années 2012 (4,3 g/L) et 2013 (3,8 g/L), d'une seconde part 2015 (7,3 g/L) et d'autre part 2016 (2,9 g/L) et 2017 (2,9 g/L). On peut observer une forte augmentation du paramètre en 2015, puis une diminution en 2016 et 2017 qui amène à des valeurs plus basses que celles du 2012 et 2013.

Pour le HDL on a un effet espèce mais pas d'effet sexe et pour les années on distingue quatre groupes où les moyennes sont significativement différentes : 2012 (2,1 g/L) ; 2013 (2,4 g/L) ; 2015 (2,8 g/L) ; 2016 (1,9 g/L) et 2017 (1,7 g/L) ensemble. On peut en déduire que le paramètre a augmenté significativement de 2012 à 2015 pour ensuite diminuer jusqu'à des seuils plus bas en 2016 et 2017.

Concernant les triglycérides et les VLDL on note un effet sexe et un effet espèce significatifs cependant on n'a pas d'effet année pour le VLDL et une augmentation significative entre 2012 (0,69 g/L) et 2017 (1,08 g/L) pour les triglycérides.

Enfin pour le LDL, valeur estimée, on a ni un effet du sexe ni de l'espèce. Pour l'année on distingue trois groupes de moyennes : 2012 (2,1 g/L) ; 2015 (4,3 g/L) et 2013 (1,3 g/L) avec 2016 (0,8 g/L) et 2017 (1,0 g/L). Ce paramètre a donc diminué de 2012 à 2013 pour ensuite augmenter en 2015 puis rediminuer en 2016 et 2017 sur des valeurs semblables à celles de 2013.

En ce qui concerne la différence de valeurs des triglycérides entre 2012 et 2017, on remarque que l'augmentation a eu lieu de manière marquée que chez les Milans parasites lors du prélèvement du 23/10/2017 (Graphique 8). Cela peut s'expliquer par le fait ce groupe n'était pas à jeun avant les prélèvements car la concentration en triglycéride est intimement liée à la prise alimentaire (Chorfí, Venne, 2015). L'absence de variation significative pour le triglycéride est cohérente avec les résultats observés entre 2012 et 2013 par le Dr FACON (Facon et al., 2014).



Graphique 8 : Variation de la concentration en en triglycérides (en g/L) selon les espèces entre trois dates clés

Schéma personnel élaboré à partir du logiciel EXCEL®

Une autre variation flagrante est l'augmentation du cholestérol en 2015 qui passe presque du simple au double. Pour savoir si une telle augmentation a un sens il faut tout d'abord pouvoir éliminer d'éventuels biais pouvant l'expliquer. Lors des recherches effectuées à posteriori aucuns biais de mesure n'ont été trouvés et la seule chose qui pourrait expliquer cette augmentation serait un défaut d'approvisionnement en poisson du Puy-du-Fou cette année-là.

Cependant aucune preuve ne nous permet d'affirmer que les deux événements sont liés mais cela renforce l'idée que l'alimentation aurait un rôle sur la concentration en cholestérol. Cette erreur dans l'alimentation pourrait aussi expliquer la ré-augmentation du poids et de l'IC à partir de 2015.

Si on exclue l'année 2015 de l'interprétation on remarque tout de même que pour un changement d'alimentation sur un plus long terme on a une diminution significative de la concentration en cholestérol, en HDL et LDL. Pour le cholestérol et le LDL ces résultats correspondent à ce qui avait été trouvé par le DR FACON alors que pour le HDL on observe une diminution sur le moyen terme alors qu'une augmentation avait été montrée sur le court terme par le DR FACON (Facon et al., 2014). Toutefois ces variations semblent corroborer avec les études faites chez les perroquets qui montraient lors d'alimentation hyper-lipidiques soit une augmentation du cholestérol et des HDL chez les Gris du Gabon et les Amazones et une augmentation des LDL chez la Conure veuve.

Au bilan le changement d'alimentation a eu pour effet :

- Une diminution du poids et de l'IC des animaux
- Une réduction la concentration en cholestérol en HDL et en LDL.

L'observance étant difficile à évaluer ici, on ne peut pas affirmer de façon certaine que l'alimentation ait des effets sur les paramètres biochimiques. Toutefois les résultats suggèrent qu'elle pourrait les influencer. De plus on remarque ici que la dichotomie entre le HDL (« bon cholestérol ») et LDL (« mauvais cholestérol ») n'est pas si évidente car l'alimentation allégée en lipide diminuerait au même titre les deux paramètres. Cependant si on prend en considération que les HDL peuvent être athérogène au même titre que les LDL, ce qui est d'autant plus vrai chez les oiseaux où les HDL transportent la majorité du cholestérol (Beaufrère et al., 2011), alors le changement d'alimentation pourrait avoir un effet bénéfique sur la réduction de l'athérosclérose chez les Milans.

4.1.3/ Peut-on établir des facteurs de risques de l'athérosclérose pour notre population de Milans ?

Nous avons donc identifié cinq facteurs de risques : le sexe, l'espèce, l'âge, le poids et la concentration en LDL (Tableau 7 en gras). A la lecture de ce tableau on peut dire que les Milans parasites ont entre 1,4 et 3,3 fois plus de chances d'être atteints par l'athérosclérose par rapport aux Milans noirs, que les femelles ont 4 à 14 fois plus de chances d'être atteints que les mâles et qu'une prise d'âge de 1 an augmente le risque d'apparition de la maladie entre

112% et 131% ce qui signifie qu'il faudrait que l'animal vieillisse entre 3 et 7 ans pour que le risque double. On peut donc conclure que le Milan parasite semble être une espèce plus touchée que le Milan noir et que l'âge augmenterait le risque d'apparition de la maladie. De plus ces résultats renforcent le fait que chez les oiseaux les femelles sont plus souvent atteintes que les mâles (Beaufre, 2013).

Si on s'intéresse au poids on remarque que celui-ci est un facteur de risque. En effet une prise de poids de 100 g augmenterait le risque d'apparition de la maladie de 111 à 131%. Cependant l'IC n'est pas un facteur de risque. Ainsi il est difficile de conclure que les animaux ayant le moins bon indice corporel sont les animaux les plus à risque.

En se penchant sur les facteurs biochimiques on remarque que seul les LDL représentent un facteur de risque. Une augmentation de 1 g/L de la concentration en LDL augmente le risque d'apparition d'athérosclérose entre 102% et 147%. On peut remarquer tout de même que le cholestérol est à la limite d'être considéré comme un facteur de risque avec une valeur basse de l'OR à 0,99. Le fait que les LDL soit le seul facteur de risque confirme la théorie oxydative de l'apparition de l'athérosclérose qui considère l'oxydation des LDL comme étant à l'origine du processus inflammatoire de formation de la plaque athérogène (Berliner et al., 1995). De plus, le fait que seul les LDL, et éventuellement le cholestérol, représentent un facteur de risque, sans que les triglycérides ne le soient, suggère que chez le Milan l'athérosclérose serait due à une hyperlipémie se rapprochant de l'hypercholestérolémie familiale de type IIa selon le classement de Frederickson. Or on sait que chez l'homme les dyslipidémies de type IIa ont une origine génétique (DENIS, 1996). On peut supposer, que chez les Milans il y aurait aussi une implication génétique. De plus on remarque que les HDL ne sont pas un facteur de risque, ni un facteur protecteur. Ainsi cette étude ne nous permet pas de dire que les HDL joueraient un rôle protecteur comme cela est évoqué chez l'homme (TOUSSAINT et al., 2003).

4.1.4/ Peut-on établir des valeurs de références pour notre population concernant le poids, l'IC et les taux sanguins en cholestérol, en triglycéride en LDL, en HDL et en VLDL ?

Etant donné que les LDL représentent un facteur de risque il est intéressant de connaître ses valeurs de référence pour les Milans afin qu'il puisse éventuellement servir d'outil diagnostique pour l'athérosclérose. Avec la méthode des quantiles nous avons estimé cet intervalle entre 0,584 g/L et 4,992 g/L. Ainsi si les valeurs sanguines du LDL dépassent la valeur de 5 g/L on peut supposer que l'individu sera à risque d'athérosclérose.

Ce travail a aussi été fait pour les autres paramètres sanguins et pour le poids et de CI (Tableau 2). Cependant comme ces paramètres ne semble pas être des facteurs de risques, établir ces valeurs de références nous permettent d'approfondir nos connaissances mais ne représentent pas d'intérêts diagnostics.

Les valeurs de références du cholestérol pour le Milan ont déjà été établies, lors de la précédente étude du Dr FACON, entre 1,88 et 6,80 mmol/L (Facon et al., 2014). En convertissant nos valeurs en g/L en mmol/L à l'aide de la masse molaire du cholestérol qui vaut 386,65 g/mol, notre étude établi les valeurs de référence du cholestérol entre 5,8 mmol/L et et 18,4 mmol/L. Ces valeurs sont beaucoup plus hautes que les précédentes et semblent plus élevées que celles connues chez les autres rapaces (Tableau 9). De telles différences sont la conséquence de la moyenne élevée de cholestérol trouvé en 2015.

Ces résultats ont leurs limites, en effet la méthode des quantiles n'est qu'une estimation des valeurs de références. Le nombre de valeurs étant relativement important pour nos paramètres, l'estimation de ces valeurs est proche de la réalité. Cependant nos valeurs ne prennent pas en compte les variations entre les sexes et les espèces qui sont parfois significatifs. L'idéal serait d'établir une valeur de référence par espèce, par sexe et par paramètre mais cela réduirait le nombre de valeurs et réduirait la précision de notre estimation par la méthode des quantiles.

Tableau 9 : Tableau comparatif des valeurs de références en cholestérol de différents Strigiformes par la méthode des quantiles 95%.

Espèce	Valeurs de référence du cholestérol en mmol/L	Source
<i>Milvus migrans</i> et <i>Milvus migrans parasiticus</i>	5,8 – 18,4	Cette étude
<i>Milvus migrans</i> et <i>Milvus migrans parasiticus</i>	1,88 – 6,80	(Facon et al., 2014)
<i>Haliaeetus leucocephalus</i>	3,87 – 6,25	(Ivins et al., 1986)
<i>Aquila rapax</i>	7,9 – 10,70	(Chitty, Lierz, 2008)
<i>Accipiter gentilis</i>	4,00 – 11,50	(Chitty, Lierz, 2008)
<i>Buteo jamaicensis</i>	2,58 – 3,87	(Kollias, McLeish, 1978)
<i>Buteo buteo</i>	3,51 – 6,44	(Gelli et al., 2009)
<i>Parabuteo unicinctus</i>	6,60 – 13,10	(Chitty, Lierz, 2008)
<i>Gyps fulvus</i>	3,33 – 7,91	(Ferrer et al., 1987)
<i>Falco rusticolus</i>	4,49 – 6,08	(Wernick et al., 2014)
<i>Falco cherrug</i>	2,04 – 6,49	(Samour, D'aloia, 1996)
<i>Falco peregrinus</i>	3,18 – 9,97	(Chitty, Lierz, 2008)
<i>Falco biarmicus</i>	3,00 – 8,80	(Chitty, Lierz, 2008)
<i>Falco columbarius</i>	3,00 - 7,80	(Chitty, Lierz, 2008)
<i>Bubo bubo</i>	4,40 - 4,96	(Garcia-Rodriguez et al., 1987)
Strigiformes (global)	3,87 – 10,93	(Ammersbach et al., 2015)

Tableau adapté de C. Facon et al. : Cluster of Atherosclerosis in a Captive Population of Black Kites (*Milvus migrans* subsp.) in France and Effect of Nutrition on the Plasma Lipid Profile (Facon et al. 2014)

4.1.5 / Bilan des quatre problématiques

Au bilan nous pouvons dire :

- qu'il n'y a pas eu d'amélioration significative de l'incidence de la mortalité à cause de l'athérosclérose mais que l'on a vu depuis 2012 une augmentation du nombre de cas diagnostiqué de par l'amélioration des méthodes de diagnostic.
- que depuis le changement d'alimentation on a eu une amélioration du poids et de l'IC des animaux et qu'il y a eu une réduction du taux de cholestérol, de LDL et de HDL tandis que les taux de triglycérides et de VLDL restent inchangés.
- que les femelles, les Milans parasites, les animaux âgés et les animaux lourds sont plus susceptibles à développer de l'athérosclérose
- que le taux de LDL est un facteur de risque pouvant potentiellement servir d'outil diagnostique et que les valeurs de référence du taux de LDL, pour les Milans (sexe et espèce indifférenciés) sont comprises entre 0,584 g/L et 4,992 g/L

Chapitre 2 : Les limites du protocole et les perspectives d'amélioration

Cette expérimentation présente différentes limites que nous allons évoquer dans cette partie avec les perspectives d'améliorations possibles pour chacune.

4.2.1/ La régularité des prises de sangs

Une des premières limites réside dans les occurrences des prises de sang qui sont irrégulières depuis 2012. En effet aucunes prises de sang n'ont eu lieu en 2014 alors qu'il y en a eu quatre en en 2012. Cela implique que chaque année n'a pas le même poids dans l'analyse car le nombre de valeurs analysées est très différent. A partir de 2017 on pourrait envisager des prises de sangs deux fois par an en mars en fin d'hivernage et en octobre en entré d'hivernage afin d'avoir une régularité dans l'analyse. On pourrait envisager des prélèvements durant la saison des spectacles car nous n'avons jusque-là aucune information sur les paramètres sanguins durant cette période. Toutefois les difficultés d'organisation avec le parc, qui doit gérer l'affluence des spectateurs, ne laisse pas de temps pour de tels chantiers lors de cette saison, qui peuvent prendre près d'une demi-journée. De plus ces manipulations représentent un stress pour l'animal, il est d'autant plus important de bien organiser les dates de prélèvements avec d'autres manipulations des animaux afin de réduire autant que possible le stress.

De plus toutes les données que nous avons sont après le changement d'alimentation. Il est donc impossible de comparer des valeurs avant et après le changement d'alimentation. On peut juste savoir si depuis 2012 les valeurs évoluent, mais on ne peut pas comparer les situations avant et après le changement d'alimentation, ce qui limite l'interprétation.

4.2.2/ Les limites des mesures

Une autre limite réside dans le fait que les valeurs de LDL et de VLDL ne soient pas mesurées directement mais soient des estimations. En effet les seules formules qui existent sont des formules qui ont été établies pour l'homme et aucunes études ne prouvent que ces formules soient applicables chez l'animal. De plus ces méthodes d'estimations ne permettent pas d'évaluer des valeurs hautes de VLDL. Par exemple, il est impossible sans mesure directe de pouvoir mettre en évidence une dyslipémie de type I, qui provoque une augmentation des triglycérides sans augmentation des VLDL. Il existe des méthodes de dosages directs de LDL et de VLDL qui présentent des résultats convenables (Bayer et al., 2005). Cependant ces méthodes de tests n'étaient pas disponibles dans les laboratoires proches du parc du Puy-du-Fou®.

De plus toutes nos mesures sont des valeurs sanguines, qui ne sont pas forcément représentatives des valeurs dans l'intima des vaisseaux. On a vu que la concentration en LDL, chez l'homme, était beaucoup plus élevée dans l'intima que dans le sang (Berliner et al., 1995). Ainsi une mesure sanguine n'est pas forcément représentative des mesures dans l'intima où les LDL et les HDL ont un pouvoir athérogène. Mesurer ces valeurs dans l'intima est possible mais les méthodes sont invasives car elles nécessitent le prélèvement d'un morceau d'artère (Hoff et al., 1977). Toutefois il peut être intéressant d'essayer d'obtenir ces mesures, après autopsie, sur des animaux morts.

4.2.3/ Efficacité du changement d'alimentation

Si on cherche à estimer les besoins énergétiques d'un Milan d'un poids moyen de 700 g son besoin métabolique est approximativement de 60 kcal/j ($78 \cdot \text{poids}^{0,75}$) et son besoin d'entretien lorsqu'il ne vole pas est de 75 kcal/j ($1,25 \cdot \text{besoin métabolique}$) (Facon et al., 2014). Avant le changement d'alimentation chaque animal mangeait en moyenne 160 g de viande par jour, ce qui faisait 191 kcal/j ($1,6 \cdot 119,4 \text{ kcal}/100\text{g}$) (Tableau 4) par Milan. Cet apport énergétique est supérieur à leur besoin journalier (140% des besoins journaliers). En remplaçant 40% de la ration par du poisson et en maintenant la quantité, les Milans ne reçoivent plus que

172 kcal/j ($1,6 \cdot (0,4 \cdot 89,9 + 0,6 \cdot 119,4)$) kcal/100g (Tableau 4) ce qui est toujours supérieur aux besoins journaliers de l'animal. Pour que les besoins journaliers soient respectés il faudrait que le poisson représente 67% du total de la ration (calcul en Annexe 7).

Malgré son insuffisance le changement d'alimentation a réduit l'apport énergétique de la ration aux Milans. Cette amélioration semble avoir un impact sur les paramètres biochimique. De plus le nouveau régime alimentaire se rapproche du régime alimentaire des rapaces à l'état sauvage qui se nourrissent de poisson. Mais ces calculs nous montrent que ce changement est perfectible. En effet il faudrait que la ration puisse contenir 67% de poisson pour que les apports énergétiques soient couverts sans excès. Cependant il est important de noter que ces calculs se basent sur des moyennes et que les oiseaux en hiver sont nourris en cohortes. Une hiérarchie est présente et les animaux dominants mangeront une ration plus élevée que les dominés. En s'approchant du nécessaire il y a un risque, malgré tout, que les dominants mangent plus que leur besoin et que les dominés ne mangent plus suffisamment, ce qui ne réglerait pas le problème.

4.2.4/ Ecart alimentaire de l'année 2015

Une autre limite de cette étude réside dans l'impossibilité de respecter la nouvelle alimentation en 2015. En effet cela rend caduque l'assertion « les animaux nés après 2011 n'auraient pas connus l'ancien régime à l'âge adulte » et devrait être remplacé par « les animaux né après 2014 n'auraient pas connus l'ancien régime à l'âge adulte ». Cependant si on considère que l'athérosclérose est un phénomène pathologique chronique (TOUSSAINT et al., 2003), un écart d'alimentation d'un an ne serait pas suffisant pour permettre aux lésions avancées d'athérosclérose d'apparaître. Cela est appuyé par les données biochimiques qui repartent à la baisse en 2016 et 2017 et qui semblent ne pas être affectées par la hausse de 2015 (Graphique 7).

4.2.5 / La quantité de cholestérol dans l'alimentation inconnue

Les données disponibles sur l'alimentation ne donnent aucune information sur les quantités de cholestérol dans l'alimentation. Or il a été montré chez l'homme que les régimes hypercholestérolémiques étaient plus athérogènes. En effet la concentration intracellulaire en cholestérol a un effet sur la quantité de LDL circulant (LEHNINGER et al., 1993). Certaines études montrent que la concentration en cholestérol est plus élevés dans les viandes issues de

poissons que dans les autres, malgré une concentration en lipides plus faible (Piironen et al., 2002).

Chapitre 3 : Quel est l'apport de ce travail et les perspectives qu'il amène ?

A la suite des informations tirées de cette étude et de ses limites nous allons voir quels conseils nous pouvons apporter au parc concernant sa gestion et voir quelles sont les perspectives d'approfondissement de ce sujet.

4.3.1/ Que peut-on proposer concrètement aux fauconniers à la suite de ce travail ?

Tout d'abord si cela est possible nous pouvons leur conseiller de continuer d'améliorer la ration hivernale pour se rapprocher le plus possible des 85% de poissons avec les limites que les phénomènes de dominance apportent. Si cela est trop compliqué à réaliser pour l'ensemble de la collection on peut essayer d'envisager d'apporter une alimentation allégée aux animaux à risque. Cette identification des oiseaux à risque peut passer par les signes cliniques mais elle est difficile car l'athérosclérose est souvent précédée d'une absence de signes cliniques.

On pourrait aussi proposer la réalisation d'un suivi régulier des valeurs biochimiques de la collection des Milans. En effet la sélection des animaux à risque pourrait passer par le taux de LDL qui a été identifié comme un facteur de risque. Les animaux présentant des taux LDL supérieur aux valeurs normales établies pourraient être considérés comme des animaux à risque. Ils pourraient recevoir individuellement un régime alimentaire adapté hypo-énergétique. Cela est bien sur possible uniquement si la fauconnerie les moyens de mettre en place cette gestion individuelle. Cette gestion s'inspire de ce qui est fait chez l'homme, en effet les médecins conseillent surtout de travailler sur l'hygiène de vie d'un patient (et principalement l'alimentation) pour diminuer les risques d'apparition de lésions avancées ou de complications de ces lésions (TOUSSAINT et al., 2003). De plus si on se réfère à la Perruche ondulée, il semblerait que des alimentations hypocaloriques diminueraient la prévalence d'athérosclérose (Beaufrere, 2013).

Des fibres peuvent aussi être rajoutées dans l'alimentation. En effet celles-ci auraient un rôle hypolipémiant et réduiraient la quantité de la prise alimentaire ce qui réduirait le risque d'apparition d'athérosclérose pathologique (TOUSSAINT et al., 2003).

Enfin on peut leur proposer de faire un suivi plus détaillé de la quantité et de la qualité des aliments. En effet enregistrer ces données au même titre que le poids des animaux ou les valeurs biochimiques permettraient éventuellement d'établir un lien plus précis entre cette alimentation et son impact sur les valeurs biochimiques ou la mortalité.

4.3.2/ Quel sont les perspectives d'amélioration de cette étude ?

Afin d'apporter une réponse aux points manquants de cette étude, il doit être envisagé de continuer de suivre la mortalité des oiseaux jusqu'au bout en cherchant à savoir si oui ou non l'animal est atteint d'athérosclérose. Ceci a bien été réalisé les deux dernières années où en 2016 et 2017 aucun cas de mortalité n'était douteux (Graphique 1). D'ici quelques années lorsque plus d'animaux n'ayant jamais connus l'ancienne alimentation sur le long terme seront décédés on pourra vérifier si la mortalité à cause de l'athérosclérose a diminué dans cette population par rapport à l'autre et ainsi confirmer l'impact sur la mortalité du changement d'alimentation.

De plus l'apport d'une régularité dans les prises de sangs permettrait de faire un meilleur suivi des valeurs biochimiques. Cela permettrait une meilleure interprétation des résultats. Le fait d'avoir plus de valeurs nous permettrait d'avoir une meilleure précision dans l'analyse des facteurs de risque et ce d'autant plus que l'on a des animaux morts d'athérosclérose dont les paramètres sont connus. Enfin, avoir plus de valeurs par espèce et par sexe nous permettrait d'estimer avec précision les valeurs de référence à l'aide des méthodes des quantiles car nous avons montrés qu'il y avait au moins un effet sexe ou espèce pour les paramètres étudiés.

On peut aussi envisager de constituer pour une étude un groupe « cas » ayant une alimentation allégée en calorie et un groupe « témoin » avec l'ancienne alimentation. Si les groupes sont faits de manière homogène en âge, sexe et espèce une réponse définitive pourrait être amenée sur l'impact de l'alimentation sur facteurs biochimiques des Milans.

Pour établir avec certitude l'effet de LDL, il semble important de trouver un laboratoire qui réalise une analyse directe du LDL sanguin, sachant que ces méthodes existent et ont été validées (Bayer et al., 2005). En effet cette étude se base sur des valeurs estimées du LDL par la méthode de FRIEDEWALD et aucune étude ne montre sa validité sur les oiseaux. Son application repose sur l'hypothèse que le métabolisme de transport des lipides est le même entre les mammifères et les oiseaux et que le transport du cholestérol est entièrement assuré par les apolipoprotéines.

4.3.3/ Quel peut être l'apport de méthodes autre que les techniques biochimiques dans ce sujet ?

Envisager un diagnostic grâce aux méthodes d'imagerie reste plutôt limité. En effet sachant que chez les Milans les ruptures de l'aorte sont fréquentes, des techniques d'échographie de l'aorte auraient pu permettre d'identifier les individus à risques. Or identifier l'aorte par échographie peut se faire chez les rapaces mais reste un examen plutôt difficile à réaliser (Straub et al., 2003). De plus l'échographie chez l'homme reste une technique de diagnostic tardive en ne détectant que des plaques compliquées en sténoses (TOUSSAINT et al., 2003). L'IRM est la méthode d'imagerie qui semble avoir les meilleurs résultats de diagnostic (Beaufrere, 2013). Or le fait qu'elle soit coûteuse et peu transportable rendent son utilisation limitée pour la fauconnerie du Puy du Fou®.

On pourrait aussi envisager d'apporter un traitement à base de statines pour les oiseaux atteints. Or ces molécules ne possèdent pas d'AMM sur les animaux. Elles ont tout de même déjà été testée sur des perroquets et réduiraient les taux sanguins de cholestérol et de LDL (Paoletti et al., 2005). Cependant nous n'avons aucun recul sur les doses à utiliser, ni sur d'éventuels effets secondaires (Beaufrere, 2013). De plus chez l'homme l'utilisation de ces molécules est controversée. L'utilisation des statines serait inutile sans être accompagnée d'une hygiène de vie adaptée incluant une nourriture hypocalorique (TOUSSAINT et al., 2003). Ainsi il semblerait qu'il soit plus pertinent et plus facile de travailler sur l'alimentation des rapaces avant d'envisager un traitement aux statines. Cependant lorsque nous aurons plus de recul sur les doses à utiliser chez les rapaces, elles pourront être utilisées pour accompagner d'un changement alimentaire sur les animaux les plus à risques.

Toutefois les perspectives les plus intéressantes résident au niveau de la génétique. En effet notre étude nous suggérerait que les animaux atteints auraient des taux de LDL et de cholestérol plus élevés se rapprochant ainsi de l'hypercholestérolémie familiale, d'origine génétique, décrite chez l'homme. On pourrait donc supposer l'existence d'une « hypercholestérolémie familiale » chez le Milan. Cette hypothèse n'est pas absurde car il a été montré une implication génétique, soit de gènes simples (génétique mendélienne) ou des groupes de gènes en fonction de l'environnement (interaction gène-environnement). Des gènes de susceptibilité d'athérosclérose ont été identifiés chez la souris (TOUSSAINT et al., 2003) (Berliner et al., 1995). De plus il existerait des mutations sur les gènes codant les récepteurs β 2-adrénergiques, qui réduiraient la lipolyse. Ces mutations qui semblent être une adaptation à la

vie sauvage pourraient être présentes chez le Milan. Sachant que le Puy de Fou réalise lui-même la reproduction de ses Milans, il peut être envisagé de sélectionner des animaux moins susceptibles de développer de l'athérosclérose. Si on considère que le taux de LDL est bien un facteur de risque, comme nous laisse penser cette étude, alors la sélection de reproducteurs pourrait se baser sur les animaux ayant les taux de LDL sanguin les plus faibles et donc peut être les plus résistants.

Conclusion

En définitive l'athérosclérose est une maladie cardio-vasculaire ayant à la fois des enjeux dans la santé humaine que dans la santé animale. Cette maladie a d'abord été étudiée chez les oiseaux afin de mieux en saisir les mécanismes en vue de comprendre la maladie chez l'homme. Toutefois avec le développement de la médecine NAC, cette maladie s'avère être importante chez certaines espèces d'oiseaux apprivoisés tel que les Psittacidés ou les rapaces. Les Milans du Puy-du Fou[®] n'ont pas dérogés à la règle et ont aussi été victimes de cette maladie à partir des années 2010.

Nous avons, dans une première partie, cherché à comprendre la maladie. On s'est d'abord intéressé à la physiologie du métabolisme lipidique et à l'anatomie des vaisseaux, pour ensuite décrire avec précision le processus pathogène. Afin nous avons envisagé du point de vue d'un praticien afin de cerner les facteurs de risques que ce soit chez l'homme ou chez les perroquets où ils sont le plus connus.

Dans la deuxième partie nous avons décrit le contexte de l'étude à travers la description des espèces (Milan noir et Milan parasite), de la fauconnerie et de son fonctionnement. Un historique du cas a été présenté et les problématiques ont été posées.

Dans les deux dernières parties nous avons donc vu dans notre protocole expérimentale quel pouvaient être les liens entre la mortalité liée à l'athérosclérose, le poids et l'indice corporel des oiseaux, les données biochimiques et le changement d'alimentation incluant 40% de viandes issues de poisson. Malgré les limites qu'elle présente, cette étude suggère :

- que pour les animaux ayant connus une mauvaise alimentation pendant plus de 2 ans, un changement d'alimentation n'était pas suffisant pour réduire la mortalité liée à l'athérosclérose. Cependant une meilleure connaissance du problème a permis un meilleur diagnostic de la maladie.

- que depuis l'apport de la nouvelle alimentation les concentrations en cholestérol, HDL et LDL ont diminués significativement tandis que ceux des triglycérides et des VLDL sont inchangés
- que les femelles et les Milans parasites sont plus susceptibles de déclarer de l'athérosclérose et que l'âge, le poids et la concentration en LDL sont aussi des facteurs de risques quand ils augmentent.

Enfin avec cette étude on a pu établir des valeurs de références pour le poids, l'indice corporel, le cholestérol, les triglycérides, les HDL, les LDL et les VLDL pour nos deux espèces et nos deux sexes confondus.

Travaux cités

ABDOLOM, AKBAR, 2017. Chapter 10 : Biosynthèse du cholestérol, des stéroïdes et des isoprénoïdes. In : *BORZUYA UNIVERSITY* [en ligne]. 23 décembre 2017. [Consulté le 2 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <http://brussels-scientific.com/?p=8524>.

AMMERSBACH, M., BEAUFRÈRE, H., GIONET ROLLICK, A. et TULLY, T., 2015. Laboratory blood analysis in Strigiformes-Part I: hematologic reference intervals and agreement between manual blood cell counting techniques. In : *Veterinary Clinical Pathology*. 27 janvier 2015. Vol. 44, n° 1, p. 94-108. DOI 10. 1111/vcp. Epub 2015 Jan 27.

ANCELLE, Thierry, 2008. *Statistique épidémiologique*. deuxième. 27 rue de l'école-de-médecine; 75006 Paris : MALOINE. Sciences fondamentales. ISBN 978-2-224-02968-5.

ANFA, 2018. Historique de la fauconnerie. In : *L'Association Nationale des Fauconniers et Autoursiers Français* [en ligne]. [Consulté le 22 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.anfa.net/fr/la-fauconnerie-dans-le-temps.html>.

ANON., 2004. *Arrêté du 25 mars 2004 fixant les règles générales de fonctionnement et les caractéristiques générales des installations des établissements zoologiques à caractère fixe et permanent, présentant au public des spécimens vivants de la faune locale ou étrangère*. S.l. : s.n.

BAUDOIN, Van Den Abeele, 2007. Le milan, un bien royal vaurien. In : *AVES*. 2007. Vol. 44, n° 2, p. 119-123.

BAUTERS, Christophe, 2009. Item 128 : Athérome : épidémiologie et physiopathologie. Le malade poly-athéromateux. In : [en ligne]. 2009. Disponible à l'adresse : <http://campus.cerimes.fr/cardiologie-et-maladies-vasculaires/enseignement/cardiologie4/site/html/cours.pdf>.

BAYER, P, VEINBERG, F, COUDERC, R, CHERFILS, C, CABBILLAU, M, COSSON, C, FRADIN, S, GILLERY, P, STEINMETZ, J, LEGRAND, A, EGLOFF, M et BEUCLER, I, 2005. Évaluation multicentrique de quatre méthodes de dosage direct du cholestérol-LDL. In : *Ann Biol Clin*. 2005. Vol. 63, p. 15.

BEAUFRÈRE, Hugues, 2013. Avian Atherosclerosis: Parrots and Beyond. In : *Journal of Exotic Pet Medicine*. 1 octobre 2013. Vol. 22. DOI 10.1053/j.jepm.2013.10.015.

BEAUFRÈRE, Hugues, NEVAREZ, Javier G., HOLDER, Kali, PARIAUT, Romain, TULLY, Thomas N. et WAKAMATSU, Nobuko, 2011. Characterization and classification of psittacine atherosclerotic lesions by histopathology, digital image analysis, transmission and scanning electron microscopy. In : *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.* octobre 2011. Vol. 40, n° 5, p. 531-544. DOI 10.1080/03079457.2011.607427.

BENDITT, E. P., 1977. The origin of atherosclerosis. In : *Scientific American*. février 1977. Vol. 236, n° 2, p. 74-85.

BERLINER, Judith A., NAVAB, Mohamad, FOGELMAN, Alan M., FRANK, Joy S., DEMER, Linda L., EDWARDS, Peter A., WATSON, Andrew D. et LUSIS, Aldons J., 1995. Atherosclerosis: Basic Mechanisms: Oxidation, Inflammation, and Genetics. In : *Circulation*. 1 mai 1995. Vol. 91, n° 9, p. 2488-2496. DOI 10.1161/01.CIR.91.9.2488.

BIRD LIFE INTERNATIONAL, 2018. *Milvus aegyptius* (Milan d'Afrique) - Avibase. In : [en ligne]. 2018. [Consulté le 28 octobre 2018]. Disponible à l'adresse : <https://avibase.bsc-eoc.org/species.jsp?avibaseid=EE9C6A5ED53A8847>.

BOHORQUEZ, Federico et STOUT, Clarke, 1972. Aortic atherosclerosis in exotic avians. In : *Experimental and Molecular Pathology*. 1 décembre 1972. Vol. 17, n° 3, p. 261-273. DOI 10.1016/0014-4800(72)90039-1.

BONTA, Mark, GOSFORD, Robert, EUSSEN, Dick, FERGUSON, Nathan, LOVELESS, Erana et WITWER, Maxwell, 2017. Intentional Fire-Spreading by "Firehawk" Raptors in Northern Australia. In : *Journal of Ethnobiology*. 1 décembre 2017. Vol. 37, n° 4, p. 700-718. DOI 10.2993/0278-0771-37.4.700.

BOSSUS, André et CHARRON, François, 2017. *Les chants d'oiseaux*. quatrième. Paris : Delachaux & Niestlé SA. Guide Delachaux. ISBN 978-2-603-02544-4.

BRUNET, Alice, 2012. *Athérosclérose aviaire et contribution à son étude chez les falconiformes*. Thèse d'exercice vétérinaire. Lyon : Université Claude-Bernard Lyon I (Medecine Pharmacie).

CAPRON, Loïc, 2018. ATHÉROSCLÉROSE. In : *Encyclopædia Universalis* [en ligne]. 2018. [Consulté le 2 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/atherosclerose/>.

CHITTY, J. et LIERZ, M., 2008. *BSAVA manual of raptors, pigeon and passerine birds*. Gloucester, United Kingdom : British Small Animal Veterinary Association.

CHORFI, Y. et VENNE, D., 2015. Biochimie sanguine chez les oiseaux. In : VAILLANCOURT, J-P., BRUGÈRE-PICOUX, J., SHIVAPRASAD, H-L., VENNE, D. et BOUZOUAIA, Moncef, *Manuel de pathologie aviaire*. première. 17, rue de la Croix Nivert 75015 Paris, France : AFAS. p. 701. ISBN 2-908014-03 978-2-908014-03-7.

CUSHING, S D et FOGELMAN, A M, 1992. Monocytes may amplify their recruitment into inflammatory lesions by inducing monocyte chemotactic protein. | *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. In : *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. janvier 1992. Vol. 12, n° 1, p. 78-82. DOI <https://doi.org/10.1161/01.ATV.12.1.78>.

DEJAGER, Sylvie, LESNIK, Philippe et TURPIN, Gérard, 1995. Hétérogénéité des LDL et potentiel athérogène. In : *Sang Trombose Vaisseaux*. 18 mars 1995. Vol. 7, n° 3, p. 155-64.

DENIS, Bernard, 1996. *Sémiologie et pathologie cardiovasculaires*. Clinique cardiologique et urgences cardiologiques CHRUG Grenoble : Professeur Bernard DENIS.

DROUELLE, Fabrice, 2018. *Cholestérol : de la psychose aux polémiques* [en ligne]. Fichier audio. [Consulté le 6 juillet 2018]. Affaire sensible. Disponible à l'adresse : <https://www.franceinter.fr/emissions/affaires-sensibles/affaires-sensibles-06-mars-2018>.

FACON, Charles, BEAUFRERE, Hugues, GABORIT, Christophe, ALBARIC, Olivier, PLASSIART, Georges, AMMERSBACH, Mélanie et LIEGEOIS, Jean-Louis, 2014. Cluster of Atherosclerosis in a Captive Population of Black Kites (*Milvus migrans* subsp.) in France and effect of Nutrition on the Plasma Lipid Profile. In : *Avian disease*. 2014. Vol. 58, p. 176-182.

FAO, 2010. *Oiseaux Sauvages Et Influenza Aviaire Une Introduction a La Recherche Appliquee Sur Le Terrain Et Les Techniques D'echantillonnage Epidemiologique*. S.l. : Food & Agriculture Org. ISBN 978-92-5-205908-0.

FERRER, M., GARCÍA-RODRÍGUEZ, T., CARRILLO, J. C. et CASTROVIEJO, J., 1987. Hematocrit and blood chemistry values in captive raptors (*Gyps fulvus*, *Buteo buteo*, *Milvus migrans*, *Aquila heliaca*). In : *Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology*. 1987. Vol. 87, n° 4, p. 1123-1127.

FITZGERALD, B.C. et BEAUFRERE, Hugues, 2016. Chapter 6 : Cardiology. In : SPEER, B.L., *Current therapy in Avian medicine and surgery*. 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043 : ELSEVIER. p. 252-328. ISBN 978-1-4557-4671-2.

FRIEDEWALD, William T, LEVY, Robert I et FREDRICKSON, Donald S, 1972. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. In : *Clinical chemistry*. 1972. Vol. 18, n° 6, p. 4.

FRUCHART, JC. et SÉZILLE, G., 1979. *Lipides et Lipoprotéines*. Boehringer Mannheim. Meylan : Boehringer Mannheim France S.A.

GARCIA-RODRIGEZ, T., FERRER, M., RECIO, F. et CASTROVIEJO, J., 1987. Circadian rhythms of determined blood chemistry values in buzzards and eagle owls. In : *Biochemistry and Physiology Comparative*. 1987. Vol. 88, p. 663-669.

GAUTIER, T., MASSON, D. et LAGROST, L., 2011. Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL). In : *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*. décembre 2011. Vol. 3, n° 4, p. 267-272. DOI 10.1016/S1878-6480(11)70785-6.

GE, J., CHIRILLO, F., SCHWEDTMANN, J., GÖRGE, G., HAUDE, M., BAUMGART, D., SHAH, V., VON BIRGELEN, C., SACK, S., BOUDOULAS, H. et ERBEL, R., 1999. Screening of ruptured plaques in patients with coronary artery disease by intravascular ultrasound. In : *Heart (British Cardiac Society)*. juin 1999. Vol. 81, n° 6, p. 621-627.

GELLI, D., FERRARI, V., FRANCESCHINI, F., LAI, O., LARICCHIUTA, P., ZANELLA, A., BERNARDINI, D. et ROMAGNOLI, S., 2009. Serum biochemistry and electrophoretic patterns in the Eurasian Buzzard (*Buteo buteo*): reference values. In : *Journal of Wildlife Diseases*. juillet 2009. Vol. 45, n° 3, p. 828-833. DOI 10.7589/0090-3558-45.3.828.

GRIFFIN, H. et HERMIER, D., 1988. Chapter 16 - Plasma lipoprotein metabolism and fattening in poultry. In : LECLERCQ, B. et WHITEHEAD, C. C. (éd.), *Leanness in Domestic Birds* [en ligne]. S.l. : Butterworth-Heinemann. p. 175-201. [Consulté le 11 juillet 2018]. ISBN 978-0-408-01036-8. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780408010368500208>.

GRUNDY, Scott M., ABATE, Nicola et CHANDALIA, Manisha, 2002. Diet composition and the metabolic syndrome: what is the optimal fat intake? In : *The American Journal of Medicine*. 30 décembre 2002. Vol. 113 Suppl 9B, p. 25S-29S.

GUO, L., SUN, B., SHANG, Z., LENG, L., WANG, Y., WANG, N. et LI, H., 2011. Comparison of adipose tissue cellularity in chicken lines divergently selected for fatness. In : *Poultry Science*. septembre 2011. Vol. 90, n° 9, p. 2024-2034. DOI 10.3382/ps.2010-00863.

HEINZEL, H., PITTER, R. et PARSLow, J., 2014. *Guide Heinzel des oiseaux d'Europe d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient*. troisième. Paris : Delachaux & Niestlé SA. Guide Delachaux. ISBN 978-2-603-02095-1.

HOFF, H. F., HEIDEMAN, C. L., GOTTO, A. M. et GAUBATZ, J. W., 1977. Apolipoprotein B retention in the grossly normal and atherosclerotic human aorta. In : *Circulation Research*. 1 novembre 1977. Vol. 41, n° 5, p. 684-690. DOI 10.1161/01.RES.41.5.684.

HURST, J.W., 1987. *Médecine clinique pour le médecin praticien*. MASSON. 120 boulevard Saint-Germain, 75280 Paris Cedex 06 : MASSON S.A. ISBN 2-225-80545-8.

INSEE, 2016. *Espérance de vie - Mortalité* [en ligne]. 2016. S.l. : INSSE référence. Disponible à l'adresse : file:///C:/Users/bastien/AppData/Local/Temp/T16F036-1.pdf.

IVINS, G., WEDDLE, G. et HALIWELL, W., 1986. *Hematology and serum chemistries in birds of prey*. deuxième. Philadelphie : W. B. Saunders.

JIALAL, I. et DEVARAJ, S., 1996. Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. In : *Clinical Chemistry*. 1 avril 1996. Vol. 42, n° 4, p. 498-506.

JOHNSON, Jeff A., MINDELL, David et RONDEAU, Guy, 2010. Yellow-billed Kite. In : *The Peregrine Fund, Global Raptor Information Network* [en ligne]. 2010. [Consulté le 16 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <http://globalraptors.org/grin/SpeciesResults.asp?specID=8367>.

JOHNSON, Jeff A, WATSON, Richard T et MINDELL, David P, 2005. Prioritizing species conservation: does the Cape Verde kite exist? In : *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 7 juillet 2005. Vol. 272, n° 1570, p. 1365-1371. DOI 10.1098/rspb.2005.3098.

JOHNSON, A.L., 2015. Chapitre 28 : Reproduction in the female. In : SCANES, COLIN G., *Sturckie's avian physiology*. 6ième édition. Oxford : ELSEVIER. p. 403-431. ISBN 978-0-12-40716-5.

KARDONG, Kenneth V., 2015. *Vertebrates : Comparative Anatomy, Function, Evolution, Seventh Edition*. septième. 2 Penn Plaza, New-York, NY 10121 : Mc Graw Hill Education. ISBN 978-0-07-802302-6.

KLEIN, Bradley G., 2013. The systemic and pulmonary circulation. In : *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology, Firth edition*. 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043 : ELSEVIER SAUNDERS. p. 608. ISBN 978-1-4377-2361-8.

KOLLIAS, G.V. et MCLEISH, I., 1978. Effects of ketamine hydrochloride in red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*). In : *II—biochemical and hematologic*. 1978. Vol. 60, p. 211-213.

L'ASSOCIATION POUR LA MISE EN VALEUR DU CHÂTEAU ET DU PAYS DU PUY DU FOU (LOI 1901), 2017a. *Puy du Fou : l'histoire n'attend que vous. Dossier de presse*. 2017. S.l. : L'Association pour la mise en valeur du Château et du Pays du Puy du Fou (loi 1901).

L'ASSOCIATION POUR LA MISE EN VALEUR DU CHÂTEAU ET DU PAYS DU PUY DU FOU (LOI 1901), 2017b. *Puy du Fou, Communiqué de presse de 03 octobre 2017*. 3 octobre 2017. S.l. : L'Association pour la mise en valeur du Château et du Pays du Puy du Fou (loi 1901).

LEGIFRANCE, 1980. *Décret n°80-791 du 1 octobre 1980 pris pour l'application de l'article 276 du code rural* | Legifrance [en ligne]. 1 octobre 1980. S.l. : s.n. [Consulté le 22 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000006063323&dateTexte=20030806>.

LEHNINGER, ALBERT L., NELSON, DAVID L., COX, MICHAEL M., KAMOUN, PIERRE, DUVAL, DOMINIQUE, LEBRUN, FABIENNE et MOWSZOWICZ, IRENE, 1993. *Principe de biochimie*. Deuxième édition. New-York : Worth Publishers. ISBN 0-87901-500-4.

LEHR, HA, HUBNER, C, NOLTE, D, FINCKH, B, BEISIEGEL, U, KOHLSCUTTER, A et MESSMER, K, 1991. Oxidatively modified human low-density lipoprotein stimulates leukocyte adherence to the microvascular endothelium in vivo. - PubMed - NCBI. In : *Res Exp Med (Berl)*. 1991. Vol. 191, n° 2, p. 85-90.

LEPAGE, Denis, 2018. Avibase - the world bird database. In : *Avibase* [en ligne]. 2018. [Consulté le 20 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : <https://avibase.bsc-eoc.org/avibase.jsp?lang=EN>.

LPO, 2003. Milan noir - observatoire-rapaces.lpo.fr. In : *Observatoire des rapaces LPO* [en ligne]. 2003. [Consulté le 19 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : http://observatoire-rapaces.lpo.fr/index.php?m_id=20064.

MEHRABIAN, M., DEMER, L. L. et LUSIS, A. J., 1991. Differential accumulation of intimal monocyte-macrophages relative to lipoproteins and lipofuscin corresponds to hemodynamic forces on cardiac valves in mice. In : *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1 juillet 1991. Vol. 11, n° 4, p. 947-957. DOI 10.1161/01.ATV.11.4.947.

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT, DE L'ENERGIE ET DE LA MER, 2018. - CITES. In : *CITES* [en ligne]. 2018. [Consulté le 22 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : <https://cites.application.developpement-durable.gouv.fr/listertaxon.do#rechercheTaxon>.

MORICE, VINCENT, 1999. FMPMC-PS - Lipides et lipoprotéines - Objectifs au cours de Biochimie PCEM2 Biochimie Métabolique et Régulations. In : [en ligne]. 1999. [Consulté le 2 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/LLbioch/POLY.Chp.8.9.html>.

MORISHITA, Teresa Y., FULLERTON, Asta T., LOWENSTINE, Linda J., GARDNER, Ian A. et BROOKS, Dale L., 1998. Morbidity and mortality in free-living raptorial birds of Northern California: A retrospective study, 1983-1994. In : *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 1998. Vol. 12, n° 2, p. 78-81.

NAVAB, M., IMES, S. S., HAMA, S. Y., HOUGH, G. P., ROSS, L. A., BORK, R. W., VALENTE, A. J., BERLINER, J. A., DRINKWATER, D. C. et LAKS, H., 1991. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. In : *The Journal of Clinical Investigation*. 1 décembre 1991. Vol. 88, n° 6, p. 2039-2046. DOI 10.1172/JCI115532.

NIEVELSTEIN-POST, P., MOTTINO, G., FOGELMAN, A. et FRANK, J., 1994. An ultrastructural study of lipoprotein accumulation in cardiac valves of the rabbit. In : *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1 juillet 1994. Vol. 14, n° 7, p. 1151-1161. DOI 10.1161/01.ATV.14.7.1151.

OMS, 2018. Cardiovascular diseases (CVDs). In : *World Health Organization* [en ligne]. 2018. [Consulté le 9 août 2018]. Disponible à l'adresse : [http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).

PALOMINO, David, 2015. Milano negro – *Milvus migrans* (Boddaert, 1783). In : . 2015. p. 20.

PAOLETTI, R., BOLEGO, C. et CIGNARELLA, A., 2005. Lipid and Non-lipid Effects of Statins. In : *Atherosclerosis: Diet and Drugs* [en ligne]. S.l. : Springer, Berlin, Heidelberg. Handbook of Experimental Pharmacology. p. 365-388. [Consulté le 7 août 2018]. ISBN 978-3-540-22569-0. Disponible à l'adresse : https://link.springer.com/chapter/10.1007/3-540-27661-0_13.

PARHAMI, F., FANG, Z. T., FOGELMAN, A. M., ANDALIBI, A., TERRITO, M. C. et BERLINER, J. A., 1993. Minimally modified low density lipoprotein-induced inflammatory responses in endothelial cells are mediated by cyclic adenosine monophosphate. In : *The Journal of Clinical Investigation*. juillet 1993. Vol. 92, n° 1, p. 471-478. DOI 10.1172/JCI116590.

PEIG, Jordi et GREEN, Andy J., 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. In : *Oikos*. 2009. Vol. 118, n° 12, p. 1883-1891. DOI 10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x.

PIIRONEN, V., TOIVO, J. et LAMPI, A. -M., 2002. New Data for Cholesterol Contents in Meat, Fish, Milk, Eggs and Their Products Consumed in Finland. In : *Journal of Food Composition and Analysis*. 1 décembre 2002. Vol. 15, n° 6, p. 705-713. DOI 10.1006/jfca.2002.1095.

PILNY, Anthony A., QUESENBERRY, Katherine E., BARTICK-SEDRISH, Tracey E., LATIMER, Kenneth S. et BERGHAUS, Roy D., 2012. Evaluation of *Chlamydophila psittaci* infection and other risk factors for atherosclerosis in pet psittacine birds. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 juin 2012. Vol. 240, n° 12, p. 1474-1480. DOI 10.2460/javma.240.12.1474.

POTIER, Romain, 2013. Lipid blood profile in captive Brahminy Kite (*Haliastur indus*) as a possible indication of increased susceptibility to atherosclerosis. In : *American Association of Zoo Veterinarians*. 2013. Vol. 44, n° 3, p. 549-554. DOI <http://dx.doi.org/10.1638/2011-0254R1.1>.

RIOUL, G., FINET, G., GINON, I., ANDRÉ-FOUËT, X., ROSSI, R., VIALLE, E., DESJOYAUX, E., CONVERT, G., HURET, J. F. et TABIB, A., 2002. Multiple Atherosclerotic Plaque Rupture in Acute Coronary Syndrome, A three-vessel intravascular ultrasound study. In : *AHA journal* [en ligne]. 2002. [Consulté le 5 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : <http://circ.ahajournals.org/content/106/7/804.long>.

SAMOUR, J. H. et D'ALOIA, Marie-Ann, 1996. Normal blood chemistry of the Saker falcon (*Falco cherrug*). In : *Avian Pathology*. mars 1996. Vol. 25, n° 1, p. 175-178. DOI 10.1080/03079459608419132.

SCANES, Colin. G, 2015. *Sturkie's Avian Physiology - 6th Edition* [en ligne]. sixième. 525 B Street, Suite 1800, San Diego, CA 92101-4495, USA : ELSEVIER. [Consulté le 2 juin 2018]. ISBN 978-0-12-407160-5. Disponible à l'adresse : <https://www.elsevier.com/books/sturkies-avian-physiology/scanes/978-0-12-407160-5>.

STARY, Herbert C., 2000. Natural History and Histological Classification of Atherosclerotic Lesions: An Update. In : *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1 mai 2000. Vol. 20, n° 5, p. 1177-1178. DOI 10.1161/01.ATV.20.5.1177.

STEINBERG, D., PARTHASARATHY, S., CAREW, T. E., KHOO, J. C. et WITZTUM, J. L., 1989. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. In : *The New England Journal of Medicine*. 6 avril 1989. Vol. 320, n° 14, p. 915-924. DOI 10.1056/NEJM198904063201407.

STRAUB, J., FORBES, N. A., THIELEBEIN, J. et KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. E., 2003. Pulsed-wave Doppler echocardiography in birds of prey. In : *The Veterinary Record*. 13 décembre 2003. Vol. 153, n° 24, p. 742-746.

TOUSSAINT, Jean-François, JACOB, Marie-Paule, LAGROST, Laurent et CHAPMAN, John, 2003. *L'athérosclérose : Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques*. MASSON. 120 boulevard Saint-Germain, 75280 Paris Cedex 06 : MASSON S.A.S. ISBN 2-294-00583.

UNESCO, 2016. La fauconnerie, un patrimoine humain vivant - patrimoine immatériel - Secteur de la culture - UNESCO. In : [en ligne]. 2016. [Consulté le 22 juillet 2018]. Disponible à l'adresse : <https://ich.unesco.org/fr/RL/la-fauconnerie-un-patrimoine-humain-vivant-01209>.

VINK-NOOTEBOOM, M., SCHOEMAKER, N. J., KIK, M. J. L., LUMEU, J. T. et WOLVEKAMP, W. Th C., 2008. Clinical diagnosis of aneurysm of the right coronary artery in a white cockatoo (*Cacatua alba*). In : *Journal of Small Animal Practice*. 2008. Vol. 39, n° 11, p. 533-537. DOI 10.1111/j.1748-5827.1998.tb03700.x.

VIRMANI, Renu, KOLODGIE, Frank D., BURKE, Allen P., FARB, Andrew et SCHWARTZ, Stephen M., 2000. Lessons From Sudden Coronary Death: A Comprehensive Morphological Classification Scheme for Atherosclerotic Lesions. In : *Arteriosclerosis*,

Thrombosis, and Vascular Biology. 1 mai 2000. Vol. 20, n° 5, p. 1262-1275.
DOI 10.1161/01.ATV.20.5.1262.

WANG, Tao et BUTANY, Jagdish, 2017. Pathogenesis of atherosclerosis. In : *Diagnostic Histopathology*. 1 novembre 2017. Vol. 23, n° 11, p. 473-478.
DOI 10.1016/j.mpdhp.2017.11.009.

WERNICK, Morena Bernadette, MARTIN-JURADO, Olga, BEAUFRÈRE, Hugues et SAMOUR, Jaime, 2014. Plasma chemistry reference values in the gyr falcon (*Falco rusticolus*). In : *Comparative Clinical Pathology*. septembre 2014. Vol. 23, n° 5, p. 1381-1386. DOI 10.1007/s00580-013-1794-5.

Table des annexes

Annexe 1 : Exemple de rapport d'autopsie fourni par le cabinet LABOVET CONSEIL® des Herbiers concernant un Milan atteint d'athérosclérose



GRAND PARC DU PUY DU FOU FAUCONNERIE
MR LIEGEOIS
BP 25
85590 LES EPESES

Les Herbiers, le 03/11/2015

Vous trouverez ci-joint les résultats de l'analyse : LH 2015.7523

Analyse : LH 2015.7523 - A

Espèce : Oiseau d'ornement Animal d'ornement
Date de Réception : 03/11/2015
GRAND PARC DU PUY DU FOU FAUCONNERIE
MR LIEGEOIS
85590 LES EPESES
Lot ou cheptel : Milan Noir 1232 NOUCHKA
Informations : Retrouvé mort le 29/10/2015
INUAIV : Non précisé
BCA : RAPACES
Date du Prélèvement : non précisée

Diagnostic :

Hémorragie abdominale et légère opacification des sacs aériens.
Sujet gras.
Faible consommation d'aliment.
Histologie pour contrôle athérosclérose en cours.

Dossier suivi par :

Consultation :

Duplicata :

Facturation :

Siège social

ZAC de la Buzenière
22 rue Olivier de Serres - BP539
85505 LES HERBIERS
Tél. +33 (0) 2 51 91 02 53

ZI Evre et Loire
Rue des Forges
49600 BEAUPREAU
Tél. +33 (0) 2 41 63 52 44

46 Boulevard Clémenceau
BP627
85306 CHALLANS
Tél. +33 (0) 2 51 93 10 10

40 rue Arsène Mignien
85140 LES ESSARTS
Tél. +33 (0) 2 51 62 82 81

Parc Tertre 1
Rue Nicole
53014 LAVAL
Tél. +33 (0) 2 43 59 76 16



Analyse : LH 2015.7523 - A

Espèce : Oiseau d'ornement Animal d'ornement
Date de Réception : 03/11/2015
GRAND PARC DU PUY DU FOU FAUCONNERIE
MR LIEGEOIS
85590 LES EPESES
Lot ou cheptel : Milan Noir 1232 NOUCHKA
Informations : Retrouvé mort le 29/10/2015
INUAV : Non précisé
BCA : RAPACES
Date du Prélèvement : non précisée

GRAND PARC DU PUY DU FOU FAUCONNERIE
MR LIEGEOIS
BP 25
85590 LES EPESES

Les Herbiers, le 03/11/2015

COMPTE RENDU D'AUTOPSIE ET PARASITAIRE

Détail de l'analyse :

Examens demandés : Autopsie, Parasitologie,
Animaux Aménés : Morts : 1) - Animaux Autopsiés : (Vivants : 0 - Morts : 1)
Poids Moyen : 782/Gr (Hétérogène)

Examen Macroscopique :

CAVITE ABDOMINALE : Sang (M1)
TETE FEMORALE : Absence de lésion (M1)
ARTICULATION TIBIO-FEMORALE : Absence de lésion (M1)
SACS AERIENS : OP : intensité 1 (M1)
COEUR : Absence de lésion (M1)
POUMONS : Congestionnés (M1)
TRACHEE : Sang (M1)
SINUS : Absence de lésion (M1)
JABOT : Vide (M1)
GESIER : Grit (M1), Contenu noirâtre / verdâtre (M1), Aliments (M1)
FOIE : Décoloré (M1)
DUODENUM : Absence de lésion (M1)
JEJUNUM : Absence de lésion (M1)
RATE : Décolorée (M1)
REINS : Absence de lésion (M1)
GRAISSE ABDOMINALE : Abondante (M1)

Examen Microscopique :

Examen Parasitaire Négatif

Duplicata :

Facturation :

Siege social

ZAC de la Buzenière
22 rue D'Avier de Senes - BP539
85505 LES HERBIERS
Tel. +33 (0) 2 51 91 02 53

ZI Eve et Loke
Rue des Forges
49600 BEAUPREAU
Tel. +33 (0) 2 41 63 52 44

46 Boulevard Clémenceau
BP627
85306 CHALLANS
Tel. +33 (0) 2 51 93 10 10

40 rue Ariste Mignan
BP627
85140 LES ESSARTS
Tel. +33 (0) 2 51 52 82 81

Parc Tertaire I
Rue Nicole
53014 LANNL
Tel. +33 (0) 2 43 59 76 15

Annexe 2 : Exemple de rapport d'histologie du Docteur ALBARIC concernant un Milan atteint d'athérosclérose



Laboratoire d'Histopathologie Animale
Site de la Chantrerie
BP 40706
44307 NANTES cedex 3
Téléphone : 02 40 68 76 57 - Télécopie : 02 40 18 00 02
Adresse email : sec-lha@oniris-nantes.fr



2012 - 0542

Dossier : 2012 - 0542	Reçu le : 01/02/12
Vos références LH 465/Grand parc du Puy du Fou	
Propriétaire : GRAND PARC DU PUY DU FOU	
Animal : / Faune sauvage Milan Sexe inconnu	
Suivi par : /	

Docteur FACON
SELARL LABOVET CONSEIL
ZI de la Buzenière
BP 539
85505 LES HERBIERS CEDEX

Nature des prélèvements : Aorte , Foie , Poumon , Cœur.

Des prélèvements d'organes de Milan ont été examinés.

Aorte : Epaissement sous-intimal diffus, marqué, en raison de l'accumulation massive de dépôts lipidiques avec cristaux de cholestérol, suscitant l'afflux discret de cellules macrophagiques ainsi qu'une calcification multifocale discrète. Fibrose débutante associée étendue à la média et métaplasie cartilagineuse multifocale minime.

Poumon : Hémorragies multifocales à diffuses, sévères, très récentes.

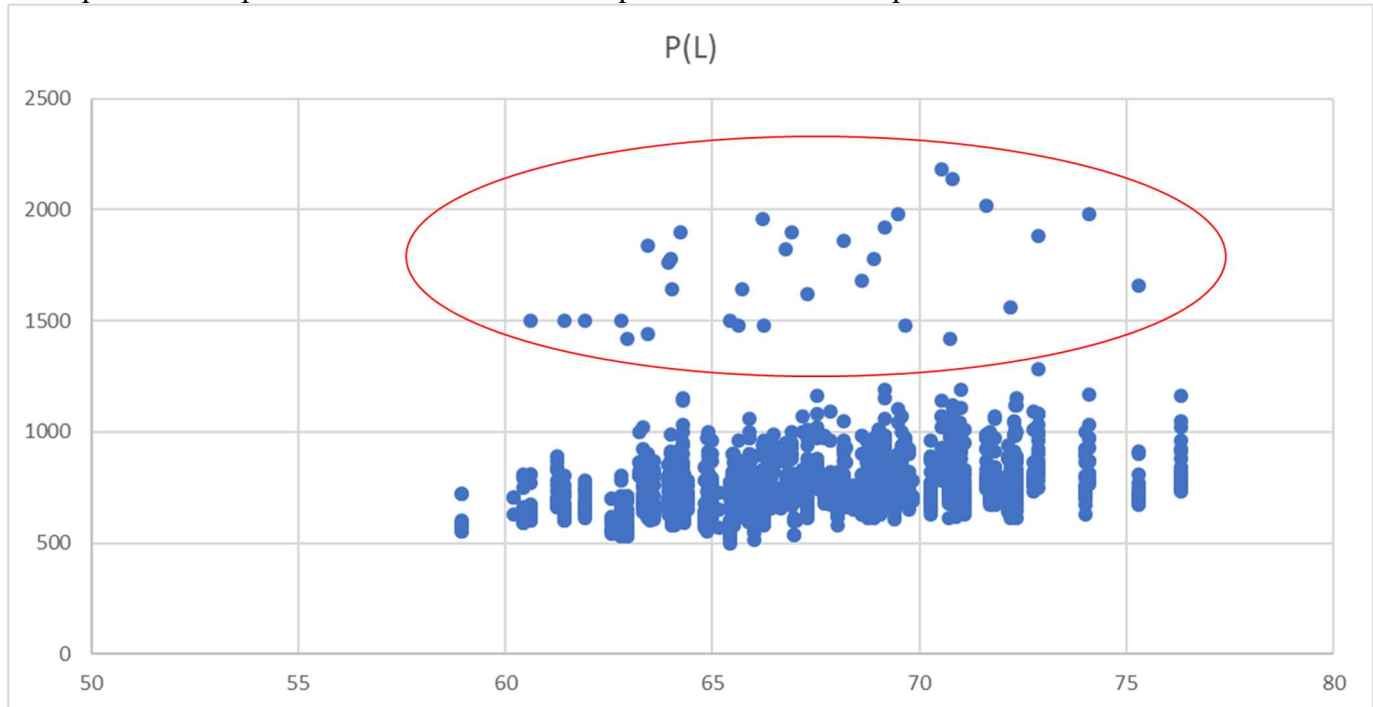
Foie, rate : Absence de lésion histologique significative.

CONCLUSION

Athérosclérose aortique marquée et Hémorragies pulmonaires massives suraigües.

Annexe 3 : Obtention du facteur b_{APS} selon la méthode de l'axe principal standard

1/ Réaliser le graphique du poids et fonction de la taille du tarse et exclure du calcul les valeurs exclues du groupes des points (rouge). Ces points ont un rapport poids/longueur très élevé ou trop faible et représentent les animaux en surpoids et en émations pouvant fausser le calcul.



Graphique du poids des Milans en fonction de la longueur de leur métatarse.

2/ Avec les valeurs non-exclues réaliser le graphique du logarithme népérien du poids en fonction du logarithme népérien de la longueur du tarse.

3/ Calculer la droite de régression linéaire de ce nuage de points qui s'exprimera sous la forme :
 $\ln M = a * \ln L + b$

4/ Obtenir le coefficient de corrélation r de cette même droite.

5/ Calculer $b_{APS} = a/r$

(Peig, Green, 2009)

Annexe 4 : Extrait des premières lignes du tableau regroupant nos données

Num	Espèce	Marquage	Nom	Sexe	Naissance	Mort
1	Milan noir	PDF1205	Jivaro	F	15/02/2004	02/08/2014
2	Milan noir	PDF1205	Jivaro	F	15/02/2004	02/08/2014
3	Milan noir	PDF1226	Mélusine	F	23/05/2007	NA
4	Milan noir	PDF1226	Mélusine	F	23/05/2007	NA

Num	Age	Dossier LH	Présomption d'athérosclérose	Date du prélèvement	Paramètre	Valeur
1	10	LH 589-2014	0	01/03/2012	Cholestérol (g/L)	3,99
2	10	LH 589-2014	0	01/03/2012	Triglycérides (g/L)	0,49
3	10	NA	NA	01/03/2012	Cholestérol (g/L)	4,57
4	10	NA	NA	01/03/2012	LDL (g/L)	2,382

Annexe 5 : Les étapes de l'interprétation d'une table d'ANOVA

1/ Réalisation de la table d'ANOVA à partir du modèle linéaire du paramètre qui nous intéresse en fonction des facteurs : sexe, espèce et année. Ici nous prendrons l'exemple du cholestérol.

Analysis of Variance Table

Response: hdl

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sexe	1	0.189	0.1886	1.2916	0.2562694
espece	1	15.344	15.3440	105.0901	< 2.2e-16 ***
annee	4	57.483	14.3708	98.4251	< 2.2e-16 ***
sexe:espece	1	0.000	0.0002	0.0011	0.9729959
sexe:annee	4	1.383	0.3458	2.3682	0.0517277 .
espece:annee	4	3.036	0.7591	5.1988	0.0004108 ***
sexe:espece:annee	4	0.126	0.0314	0.2151	0.9300508
Residuals	520	75.924	0.1460		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Si aucunes interactions n'est significative (présence d'un code de significativité) :

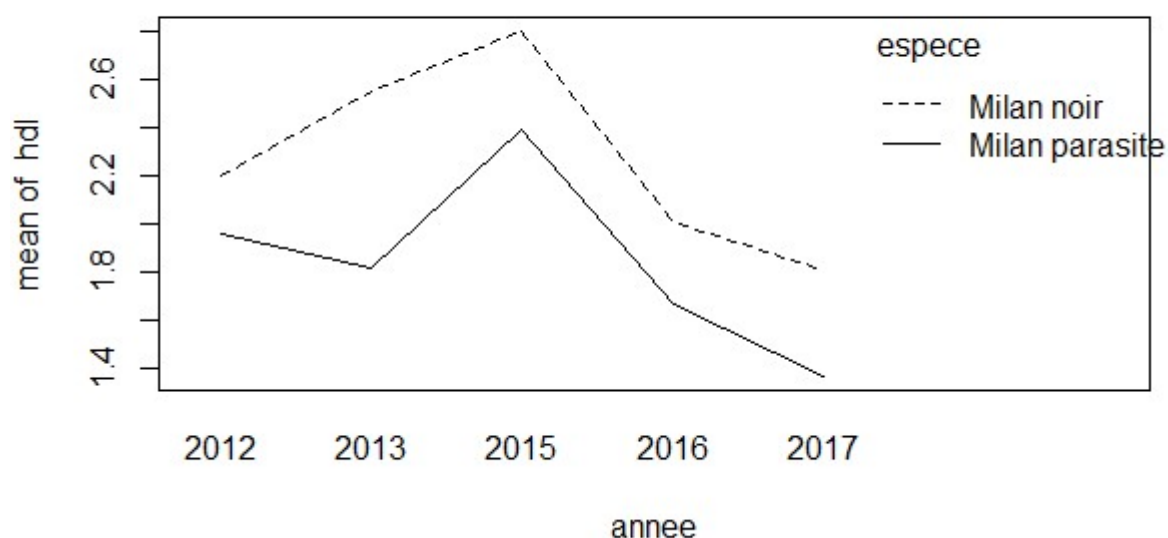
2/ Les résultats seuls peuvent être interprétables. Notre variable dépendra du facteur si un code de significativité apparaît. Si le facteur a plus de 2 catégories, un test de Fisher suivi d'un test de Student est réalisé deux à deux (pairwise comparaison) afin d'identifier qu'elles paires ont des moyennes significativement différentes.

Si l'interaction des trois facteurs est significative :

3/ La table n'est pas interprétable

Si l'interaction de deux facteurs est significative :

4/ Réaliser le graphique du paramètre en fonction de nos deux facteurs. Ici l'interaction entre l'année et l'espèce est significative pour les HDL alors on réalise le graphique de la concentration en HDL en fonction de l'année et de l'espèce.



Si les deux courbes ne se croisent pas :

5/ Alors les paramètres peuvent être interprétés de manière individuelle comme pour l'étape 2/. Ici les deux courbes ne se croisent pas donc la concentration est bien dépendante de l'espèce et de l'année. Comme pour le facteur année on a plus de deux catégories une « pairwise comparaison » est réalisée afin de déterminer quelles sont les années significativement différentes.

Si les deux courbes se croisent :

6/ Les facteurs ne peuvent pas être interprétés individuellement. Il faut donc réaliser une « pairwise comparaison » en tenant compte de nos deux paramètres et interpréter que les pairs qui ont un sens. Ici si nos courbes s'étaient croisées on aurait réalisé une « pairwise comparaison » en fonction de l'année et de l'espèce. C'est-à-dire que l'on aurait eu une variance et une moyenne par espèce et par année soit 10 groupes et 45 comparaisons. Or parmi les 45 comparaisons seules sont intéressantes les comparaisons pour une même espèce sur deux années différentes ou sur une même année pour deux espèces différentes. Comparer la valeur des Milans parasites en 2015 par rapport aux Milans noirs de 2012 apporte peu d'intérêt.

Annexe 6 : Méthode du rejet des valeurs aberrantes

1/ Calculer la moyenne m et σ l'écart type du paramètre avec toute les valeurs

2/ Calculer le facteur λ la valeur d'une loi normale centré réduite pour une probabilité de 90% soit : $\lambda=1,281551566$

3/ Calculer l'intervalle : $m \mp \lambda * \sigma * \sqrt{n + 1/n}$ avec n le nombre de valeurs de nombre paramètre.

4/ Exclure toutes les valeurs qui n'appartiennent pas à l'intervalle précédent considéré comme des valeurs aberrantes.

Annexe 7 : Calcul du taux de poisson à inclure dans l'alimentation pour respecter le besoin journalier du Milan.

Si on considère x la proportion de poisson à 89,9 kcal/100g, $1-x$ la proportion de viande (mammifère ou oiseau) à 119,4 kcal/100g, un besoin total de 135kcal/j et une ration de 160g par animal alors on peut poser l'équation :

$$(89,9 * x + (1 - x) * 119,4) * 1,6 = 135$$

Ainsi en isolant x on trouve :

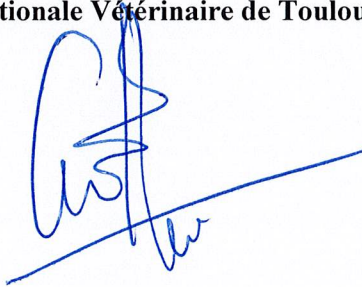
$$x = \frac{119,4 - \frac{135}{1,6}}{119,4 - 89,9} \approx 0,67$$

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Jean-Luc GUERIN, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Bastien PRADEL** intitulée « **Impact du régime alimentaire sur l'incidence de l'athérosclérose sur les oiseaux. Exemple d'une collection de Milans noirs (*Milvus migrans*) et Milans parasites (*Milvus migrans parasiticus*)** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 31 octobre 2018
Professeur Jean-Luc GUERIN
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Christophe PASQUIER



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL



Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU

Régine ANDRE-OBRECHT



PRADEL BASTIEN

Titre : Impact du régime alimentaire sur l'incidence de l'athérosclérose sur les oiseaux. Exemple d'une collection de Milans noirs (*Milvus migrans*) et Milans parasites (*Milvus migrans parasiticus*).

Résumé :

L'athérosclérose est la principale maladie cardiovasculaire affectant l'homme dans les pays industrialisés. Cependant cette maladie affecte aussi plusieurs espèces animales, et majoritairement les oiseaux. La maladie a bien été décrite chez les oiseaux de la famille des Psittacidés, mais aussi chez des rapaces de la famille des Accipitridés.

En 2010 des cas d'athéroscléroses ont été avérés sur des Milans noirs (*Milvus migrans*) et des Milans parasites (*Milvus migrans parasiticus*) à la fauconnerie du Puy-du-Fou®. En 2012 les fauconniers ont changé le régime alimentaire de ces oiseaux en incluant des viandes pauvres en lipides, comme du poisson.

L'objectif de ce travail est d'essayer d'identifier si ce changement a eu un impact sur l'incidence de la maladie et s'il y a eu des évolutions concernant les paramètres biochimiques du métabolisme lipidique. Nous avons aussi cherché à identifier les facteurs favorisant de la maladie et établir des valeurs de références pour les paramètres étudiés.

Mots clés :

Athérosclérose ; Milans ; Rapaces ; Milvus ; Migrans ; Parasiticus ; Cholestérol ; LDL ; HDL ; VLDL ; Triglycérides

Title: Effect of diet on incidence of avian atherosclerosis. Case report of a captive population of Black Kite (*Milvus migrans*) and the subspecies *parasiticus* (*Milvus migrans parasiticus*).

Abstract :

Atherosclerosis is the first cardiovascular human disease in developed countries. However atherosclerosis affect several animal species and most of them are birds. That disease is well known in *Psittacidae* and in *Accipitridae*.

In 2010 cases of atherosclerosis have been found in Black Kites (*Milvus migrans*) and in his subspecies *parasiticus* (*Milvus migrans parasiticus*) at the Puy-du-Fou® falconry. In 2012 a diet change, that include fish, and others poor-lipid meat, have been made.

The objective of this work is to try to evaluate if the diet change has an effect on atherosclerosis incidence and to identify putative evolutions of biochemistry parameters of lipid metabolism. Moreover, we determine which parameters are promoting factors and their standard values.

Key words :

Atherosclerosis ; Kites ; Raptors ; Milvus ; Migrans ; Parasiticus ; Cholesterol ; LDL ; HDL ; VLDL ; Triglycerides