



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/> 25713

To cite this version:

Chauvelot, Madeleine . *Le modèle ovin en neuroimagerie translationnelle : réalisation d'un atlas IRM 2D et étude de faisabilité de l'Imagerie du Tenseur de Diffusion quantitative de l'encéphale du Mouton*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2019, 132 p.

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

LE MODELE OVIN EN NEUROIMAGERIE TRANSLATIONNELLE : REALISATION D'UN ATLAS IRM 2D ET ETUDE DE FAISABILITE DE L'IMAGERIE DU TENSEUR DE DIFFUSION QUANTITATIVE DE L'ENCEPHALE DU MOUTON

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

Madeleine CHAUVELOT
Née, le 21 avril 1985 à Briey (54)

Directeur de thèse : Mme Alexandra DEVIERS

JURY

PRESIDENT :

Mme Isabelle BERRY

Professeure à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Alexandra DEVIERS

Mr Giovanni MOGICATO

Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur par intérim : Frédéric Bousquet

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. SANS Pierre, *Productions animales*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
- Mme DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
- M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*
- M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. RABOISSON Didier, *Productions animales (ruminants)*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

Mise à jour au 01/09/2019

- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
- Mme MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
- Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
- M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
- Mme BENNIS-BRET Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme BOUHSIRA Emilie, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
- M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
- Mme DANIELS Hélène, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme DAVID Laure, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme DEVIERS Alexandra, *Anatomie-Imagerie*
- M. DOUET Jean-Yves, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme FERRAN Aude, *Physiologie*
- Mme JOURDAN Géraldine, *Anesthésie - Analgésie*
- Mme LALLEMAND Elodie, *Chirurgie des Equidés*
- Mme LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*
- M. LE LOC'H Guillaume, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme MILA Hanna, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mme PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. VERGNE Timothée, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales réglementées*
- Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. DIDIMO IMAZAKI Pedro, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. LEYNAUD Vincent, *Médecine interne*
- Mme ROBIN Marie-Claire, *Ophthalmologie*
- M. TOUITOU Florian, *Alimentation animale*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme BLONDEL Margaux, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. CARTIAUX Benjamin, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. COMBARROS-GARCIA Daniel, *Dermatologie vétérinaire*
- M. GAIDE Nicolas, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. JOUSSERAND Nicolas, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. LESUEUR Jérémy, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

« On peut reconnaître la vérité de ceci sur les brebis, qui sont sujettes à être attaquées de cette maladie, et surtout sur les chèvres chez qui elle est très fréquente. Si on ouvre la tête d'une chèvre, on trouve le cerveau humide, plein d'eau et exhalant une mauvaise odeur. D'où il ressort évidemment que ce n'est pas un dieu qui afflige ici le corps, mais bien la maladie. Il en est de même pour l'homme »

Hippocrate

REMERCIEMENTS

Au Président de thèse
Madame le Professeur Isabelle BERRY
Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Biophysique, Imagerie

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.
Hommages respectueux

Au Directeur de thèse
Madame le Docteur Alexandra DEVIERS
Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Anatomie - Imagerie Médicale,

Qui a accepté d'encadrer ce projet et m'avoir guidée tout au long de sa réalisation.
Qu'elle trouve ici toute l'expression de ma reconnaissance

A l'assesseur,
Monsieur le Professeur Giovanni MOGICATO
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Anatomie - Imagerie Médicale,

Pour avoir accepté de prendre part à ce jury de thèse et pour son soutien.
Sincère reconnaissance

A Monsieur le Docteur Samuel Boucher
Unité ToNIC INSERM

Pour son aide précieuse.
Sincères remerciements

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|----|
| REMERCIEMENTS | 7 |
| LISTE DES FIGURES | 13 |
| LISTE DES TABLEAUX..... | 17 |
| INTRODUCTION..... | 19 |
| PARTIE THEORIQUE | 21 |
| 1 Bases de l'imagerie par résonance magnétique..... | 23 |
| 1.1 Définition | 23 |
| 1.2 Phénomène de RMN et acquisition du signal | 23 |
| 1.2.1 Magnétisme moléculaire et résonance magnétique..... | 23 |
| 1.2.1.1 Origine de la résonance magnétique..... | 23 |
| 1.2.1.2 Le champ magnétique B_0 | 25 |
| 1.2.1.3 Excitation par onde radiofréquence | 26 |
| 1.2.2 Acquisition du signal..... | 27 |
| 1.3 Pondérations T1 et T2 | 28 |
| 1.4 Séquence écho de spin..... | 30 |
| 1.5 Imagerie de diffusion | 32 |
| 1.5.1 Mouvement brownien et phénomène de diffusion..... | 32 |
| 1.5.2 Séquences pondérées en diffusion..... | 33 |
| 1.5.3 Diffusion isotrope et anisotrope | 33 |
| 1.5.4 Imagerie du tenseur de diffusion (DTI)..... | 35 |
| 1.5.4.1 Fraction d'anisotropie et diffusivité moyenne..... | 35 |
| 1.5.4.2 Tractographie..... | 36 |
| 2 Le modèle ovin en neuroimagerie translationnelle | 38 |
| 2.1 Intérêts d'un modèle « grand animal domestique » | 38 |
| 2.2 Les modèles ovins de maladies neurodégénératives humaines..... | 44 |
| 2.2.1 Modèle ovin spontané de maladies neurologiques humaines : étude des maladies de surcharge lysosomale | 45 |
| 2.2.1.1 Définition..... | 45 |
| 2.2.1.2 Les Céroïdes-Lipofuscinoses Neuronales (CLN)..... | 45 |
| a. Etiologie | 45 |

| | | |
|---------|--|----|
| b. | Symptômes..... | 46 |
| c. | Lésions | 46 |
| d. | Le modèle ovin | 46 |
| 2.2.1.3 | Gaucher disease | 49 |
| a. | Définition | 49 |
| b. | Etiologie..... | 49 |
| c. | Symptômes..... | 49 |
| d. | Lésions | 50 |
| e. | Diagnostic | 50 |
| f. | Traitement | 51 |
| g. | Le modèle ovin | 51 |
| 2.2.2 | Modèle ovin transgénique de maladies neurologiques humaines : étude de la maladie de Huntington | 52 |
| 2.2.2.1 | Définition..... | 52 |
| 2.2.2.2 | Etiologie..... | 52 |
| 2.2.2.3 | Symptômes | 52 |
| 2.2.2.4 | Lésions..... | 54 |
| 2.2.2.5 | Diagnostic | 54 |
| 2.2.2.6 | Traitement..... | 54 |
| 2.2.2.7 | Le modèle ovin | 55 |
| 2.2.3 | Modèle ovin de maladies neurologiques humaines d'origine infectieuse : étude des Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST) | 56 |
| 2.2.3.1 | Les ESST : généralités..... | 56 |
| a. | Définition | 56 |
| b. | Etiologie : le prion | 57 |
| 2.2.3.2 | La tremblante des petits ruminants | 58 |
| a. | Formes de tremblante..... | 58 |
| b. | Epidémiologie | 59 |
| c. | Symptômes..... | 61 |
| d. | Localisation des lésions microscopiques cérébrales | 62 |
| e. | Diagnostic | 62 |
| 2.2.3.3 | La maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) | 62 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 2.2.3.4 | Intérêt de l'IRM de diffusion dans l'étude des ESST | 64 |
| a. | Chez l'Homme | 64 |
| b. | Pour le modèle ovin | 64 |
| 2.3 | Examen IRM de l'encéphale d'ovins | 65 |
| 2.3.1 | Examen IRM in vivo | 65 |
| 2.3.1.1 | Recommandations d'utilisation d'un scanner IRM clinique | 65 |
| 2.3.1.2 | Protocoles d'anesthésie..... | 66 |
| 2.3.2 | Réalisation d'IRM ex vivo : influence de la mort et de la conservation au formol sur les acquisitions..... | 67 |
| 2.3.2.1 | Modification du T1 et du T2..... | 68 |
| 2.3.2.2 | Modification de la FA et de la MD..... | 69 |
| | OBJECTIFS DE L'ETUDE EXPERIMENTALE | 71 |
| | CONTRIBUTION EXPERIMENTALE..... | 75 |
| 1 | Matériel et méthodes | 77 |
| 1.1 | Préparation des spécimens <i>ex vivo</i> | 77 |
| 1.2 | Acquisitions IRM | 77 |
| 1.3 | Légendes de l'atlas | 78 |
| 1.4 | Analyse des données IRM..... | 79 |
| 1.4.1 | Segmentation manuelle des régions d'intérêt..... | 79 |
| 1.4.2 | Traitement des données issues de la diffusion | 80 |
| 2 | Résultats | 81 |
| 2.1 | Atlas de l'encéphale de moutons..... | 81 |
| 2.1.1 | Image pilote..... | 81 |
| 2.1.2 | Coupe médiane | 83 |
| 2.1.3 | Coupes transversales | 83 |
| 2.1.4 | Coupes dorsales..... | 106 |
| 2.2 | FA et MD | 109 |
| 2.3 | Tractographie | 109 |
| | DISCUSSION | 111 |
| | CONCLUSION | 117 |
| | REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 121 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1. Moment magnétique et vecteur d'aimantation microscopique [2]..... | 24 |
| Figure 2. Spin individuel du proton d'hydrogène [6]. | 25 |
| Figure 3. Spin des protons d'hydrogène dans les tissus en l'absence de champ magnétique externe [6]. | 25 |
| Figure 4. Protons dans un échantillon tissulaire en présence d'un champ magnétique B0 [5]. | 26 |
| Figure 5. Représentation schématique du principe de l'IRM..... | 28 |
| Figure 6. Repousse du vecteur d'aimantation longitudinale (Mz). Le temps T1 représente le temps nécessaire à l'aimantation longitudinale pour retrouver 63% de son état initial après une impulsion RF de 90° [3]..... | 29 |
| Figure 7. Disparition de l'aimantation transversale Mxy. Le temps T2 correspond au temps nécessaire à l'aimantation pour décroître de 63% [3]..... | 30 |
| Figure 8. Intérêt de l'impulsion RF de 180° dans l'affranchissement des inhomogénéités propres à B ⁰ [2]. | 31 |
| Figure 9. Chronologie des évènements au cours du phénomène de l'écho de spin. a) impulsion de 90°, les spins sont en phase, b) les spins se déphasent rapidement, c) impulsion de 180°, les spins se rephasent, d) les spins sont rephasés et le signal apparaît sous forme d'écho et peut être mesuré [2]..... | 31 |
| Figure 10. Coupes transversales d'encéphale ovin en pondération T2 à gauche et T1 à droite (Images obtenues à l'institut des sciences du cerveau de Toulouse). | 32 |
| Figure 11. Coupe axiale pondérée en diffusion d'une patiente suspectée d'être atteinte de la MCJ. L'IRM montre un hypersignal bilatéral de la tête du noyau caudé et du putamen prédominant sur l'hémisphère droit ainsi qu'un hypersignal du ruban cortical prédominant à droite (flèches oranges) [10]..... | 34 |
| Figure 12. Cartes dérivées de la DTI d'un encéphale ovin. A gauche carte de MD et à droite carte de FA. La ligne inférieure représente les mêmes cartes mais colorées selon la valeur de la diffusion (en mm ² / s × 10 ⁻³) pour la MD et selon la direction des fibres pour la FA (sens rostral-caudal en bleu, sens dorsal-ventral en vert et sens médial-latéral en rouge [16]..... | 36 |
| Figure 13. Tractographie des fibres du corps calleux d'un cerveau humain [18]..... | 37 |
| Figure 14. Les espèces utilisées pour l'expérimentation en France (Source : <i>lejournal.cnrs.fr</i>) | 38 |
| Figure 15. Encéphales humain et animaux, formes et tailles relatives [24]..... | 39 |
| Figure 16. Coupes dorsales d'encéphales d'ovins pondérées en T2. A gauche (C), le contrôle et à droite (D) encéphale d'ovin atteint de CLN de type 5. On remarque l'atrophie corticale marquée et la conservation de l'intégrité du cervelet [51]. | 47 |

| | |
|--|----|
| Figure 17. Préservation de la structure neuroanatomique après thérapie génique préclinique dans le cadre de la CLN de type 5. Coupes dorsales et transversales pondérées en T1. En partant de la gauche : ovin âgé de 19 mois sain, ovin âgé de 19 mois atteint de CLN de type 5 non traité, ovins de 27 mois atteints de CLN de type 5 traités par thérapie génique [57]. | 48 |
| Figure 18. Cellules de Gaucher : les macrophages de Gaucher présentent un cytoplasme contenant un matériel tubulaire disposé en lamelles épaisses parallèles ou en fines fibrilles, refoulant contre la membrane un petit noyau (flèche noire) [65]..... | 50 |
| Figure 19. Mesure de l'atrophie cérébrale dans la maladie de Huntington par IRM. Patient sain à gauche et patient atteint de MH à droite [71] | 54 |
| Figure 20. Modèles de conformation de la PrPc et de la PrPsc [79]..... | 58 |
| Figure 21. Sensibilité vis-à-vis de la forme classique de tremblante selon le génotype [86]. . | 60 |
| Figure 22. Prurit dorso-lombaire chez une brebis atteinte de tremblante classique..... | 61 |
| Figure 23. Valeurs T2 dans les voxels proches de la surface (courbe noire) et dans les tissus profonds (courbe grise), en fonction du temps de fixation en jours [115]..... | 69 |
| Figure 24. Exemple de fenêtre de contourage manuel de la ROI noyau caudé droit dans le logiciel MRICron. | 79 |
| Figure 25. Présentation des ROI réalisées manuellement chez un mouton sain sur une coupe dorsale (A) et une coupe transversale (B) pondérée en T2. Turquoise : Noyau caudé droit, Rose : Noyau caudé gauche, Rouge : Putamen droit, Vert : Putamen gauche, Orange : Pallidum droit, Jaune : Pallidum gauche, Beige : Hippocampe droit, Bleu : Hippocampe gauche..... | 80 |
| Figure 26. Coupes pilotes transversales | 82 |
| Figure 27. Coupes pilotes dorsales..... | 82 |
| Figure 28. Coupe médiane pondérée en T2. 1: Corps mamillaire 2: Adhésion interthalamique 3: Décussation des pédoncules cérébelleux rostraux 4: Récessus épiphysaire du troisième ventricule 5: Ventricule latéral 6: Gyrus cingulaire | 83 |
| Figure 29. Niveau A – Coupe transversale pondérée en T2..... | 84 |
| Figure 30. Niveau A – Coupe transversale pondérée en T1..... | 84 |
| Figure 31. Niveau B – Coupe transversale pondérée en T2..... | 85 |
| Figure 32. Niveau B – Coupe transversale pondérée en T1 | 85 |
| Figure 33. Niveau C – Coupe transversale pondérée en T2..... | 86 |
| Figure 34. Niveau C – Coupe transversale pondérée en T1 | 86 |
| Figure 35. Niveau D – Coupe transversale pondérée en T2..... | 87 |
| Figure 36. Niveau D – Coupe transversale pondérée en T1..... | 87 |
| Figure 37. Niveau E – Coupe transversale pondérée en T2 | 88 |
| Figure 38. Niveau E – Coupe transversale pondérée en T1 | 88 |

| | |
|---|-----|
| Figure 39. Niveau F – Coupe transversale pondérée en T2 | 89 |
| Figure 40. Niveau F – Coupe transversale pondérée en T1 | 89 |
| Figure 41. Niveau G – Coupe transversale pondérée en T2..... | 90 |
| Figure 42. Niveau G – Coupe transversale pondérée en T1..... | 90 |
| Figure 43. Niveau H – Coupe transversale pondérée en T2..... | 91 |
| Figure 44. Niveau H – Coupe transversale pondérée en T1..... | 91 |
| Figure 45. Niveau I – Coupe transversale pondérée en T2 | 92 |
| Figure 46. Niveau I – Coupe transversale pondérée en T1 | 92 |
| Figure 47. Niveau J – Coupe transversale pondérée en T2..... | 93 |
| Figure 48. Niveau J – Coupe transversale pondérée en T1 | 93 |
| Figure 49. Niveau K – Coupe transversale pondérée en T2..... | 94 |
| Figure 50. Niveau K – Coupe transversale pondérée en T1..... | 94 |
| Figure 51. Niveau L – Coupe transversale pondérée en T2 | 95 |
| Figure 52. Niveau L – Coupe transversale pondérée en T1 | 95 |
| Figure 53. Niveau M – Coupe transversale pondérée en T2..... | 96 |
| Figure 54. Niveau M – Coupe transversale pondérée en T1 | 96 |
| Figure 55. Niveau N – Coupe transversale pondérée en T2..... | 97 |
| Figure 56. Niveau N – Coupe transversale pondérée en T1..... | 97 |
| Figure 57. Niveau O – Coupe transversale pondérée en T2..... | 98 |
| Figure 58. Niveau O – Coupe transversale pondérée en T1..... | 98 |
| Figure 59. Niveau P – Coupe transversale pondérée en T2 | 99 |
| Figure 60. Niveau P – Coupe transversale pondérée en T1 | 99 |
| Figure 61. Niveau Q – Coupe transversale pondérée en T2..... | 100 |
| Figure 62. Niveau Q – Coupe transversale pondérée en T1..... | 100 |
| Figure 63. Niveau R – Coupe transversale pondérée en T2..... | 101 |
| Figure 64. Niveau R – Coupe transversale pondérée en T1 | 101 |
| Figure 65. Niveau S – Coupe transversale pondérée en T2 | 102 |
| Figure 66. Niveau S – Coupe transversale pondérée en T1 | 102 |
| Figure 67. Niveau T – Coupe transversale pondérée en T2 | 103 |
| Figure 68. Niveau T – Coupe transversale pondérée en T1 | 103 |
| Figure 69. Niveau U – Coupe transversale pondérée en T2..... | 104 |
| Figure 70. Niveau U – Coupe transversale pondérée en T1..... | 104 |

| | |
|--|-----|
| Figure 71. Niveau V – Coupe transversale pondérée en T2..... | 105 |
| Figure 72. Niveau V – Coupe transversale pondérée en T1..... | 105 |
| Figure 73. Niveau W - Coupe dorsale pondérée en T2..... | 107 |
| Figure 74. Niveau X - Coupe dorsale pondérée en T2..... | 107 |
| Figure 75. Niveau Y - Coupe dorsale pondérée en T2..... | 108 |
| Figure 76. Niveau Z - Coupe dorsale pondérée en T2 | 108 |
| Figure 77. Tractographie <i>in vivo</i> du corps calleux d'un encéphale ovin recalée aux images anatomiques pondérées en T1[16]..... | 115 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|-----|
| Tableau 1. Ratio SG/SB chez plusieurs espèces en comparaison avec l'Homme [13], [14] | 39 |
| Tableau 2. Modèles ovins de maladies neurologiques humaines. Adapté à partir de [20] | 44 |
| Tableau 3. Pourcentage d'hélice α et de feuillet β de la PrPc et de la PrPsc [80]..... | 58 |
| Tableau 4. Estimation du temps nécessaire pour obtenir une stabilisation de la fixation*[121]. | 68 |
| Tableau 5. Paramètres d'acquisition utilisés pour les séquences d'IRM anatomique (T1 et T2) et de diffusion de l'encéphale de mouton..... | 78 |
| Tableau 6. Paramètres de reconstruction du tenseur de diffusion pour l'étude multiparamétrique de l'encéphale de mouton. | 78 |
| Tableau 7. Valeurs moyennes par ROI de la FA et de la MD..... | 109 |

LISTE DES ABREVIATIONS

CLN : Céroïde Lipofuscinose Neuronale

DTI : Imagerie du tenseur de diffusion (*Diffusion Tensor Imaging*)

DTT : Tractographie du Tenseur de diffusion (*Diffusion Tensor Tractography*)

ESST : Encéphalopathie Spongiforme Subaiguë Transmissible

ESB : Encéphalopathie Spongiforme Bovine

FA : Fraction d'Anisotropie

GD : Maladie de Gaucher (*Gaucher Disease*)

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LCS : Liquide Cérébrospinal

MCJ : Maladie de Creutzfeld Jakob

MD : Diffusivité moyenne (*Mean Diffusivity*)

MH : Maladie de Huntington

Prion : Particule protéinique infectieuse (*Proteinaceous infectious particle*)

RF : Radiofréquence

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ROI : Région d'intérêt (*Region Of Interest*)

T1 : Temps de relaxation de l'aimantation longitudinale (spin-réseau)

T2 : Temps de relaxation de l'aimantation transversale (spin-spin)

TE : Temps d'Echo

TR : Temps de Répétition

INTRODUCTION

Passerelle entre la recherche fondamentale et la recherche appliquée, la recherche translationnelle assure le lien entre une recherche fondamentale indispensable à tout progrès, et une recherche clinique axée sur des patients.

En recherche translationnelle en neuroscience, les modèles animaux sont essentiels pour élucider les mécanismes régissant les pathologies neurodégénératives complexes. Considéré comme le père de la médecine, Hippocrate fut d'ailleurs le premier à utiliser et décrire un modèle animal (brebis et chèvre) pour expliquer une maladie que l'on pensait surnaturelle; l'épilepsie [1]. Aujourd'hui, 2500 ans plus tard l'expérimentation animale reste un pilier de la recherche biologique et médicale. Si les modèles cellulaires et invertébrés sont fréquemment utilisés dans la recherche sur les maladies neurodégénératives, et ont sans aucun doute fourni des données très utiles, la nature relativement simpliste de ces systèmes limite les connaissances tirées de tels modèles.

Ces dernières années, dans le domaine des neurosciences, les modèles « grands animaux domestiques » ont donc pris une certaine ampleur et particulièrement le modèle ovin. En effet, doté, entre autres, d'un important volume cérébral, d'un cerveau gyrencéphalique et de structures neuroanatomiques bien distinctes, le mouton est devenu un élément essentiel de la recherche pour tenter de combler le fossé qui sépare les rongeurs des humains.

En neurologie, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique récente d'investigation des bases neuro-anatomiques et fonctionnelles des processus comportementaux, neuroendocriniens ou cognitifs. L'IRM est l'examen d'imagerie du système nerveux qui donne d'ailleurs la meilleure résolution en contraste des tissus et permet l'acquisition d'images tridimensionnelles. Non invasive, et sans effets secondaires connus, elle répond à des besoins de recherches scientifiques sur les animaux tout en limitant les interventions, optimisant ainsi les conditions d'expérimentation. Cependant, l'utilisation de la neuroimagerie par résonance magnétique nécessite de disposer de références spécifiques à chaque espèce animale.

L'objectif de cette thèse est donc de réaliser un atlas 2D d'encéphale ovin afin de faciliter l'interprétation des images dans les études incluant des moutons et d'évaluer la faisabilité de l'Imagerie du Tenseur de Diffusion ou DTI (Diffusion Tensor Imaging) chez le Mouton avec un scanner 3 Tesla pour de potentielles futures études en neuroimagerie translationnelle utilisant ce modèle animal.

Dans une première partie bibliographique, nous définirons les principes fondamentaux de l'IRM afin de comprendre l'origine des images obtenues et expliciterons le principe de l'IRM de diffusion. Ensuite, nous étudierons le modèle « grands animaux domestiques » en recherche scientifique, ses atouts, son utilisation dans les études de certaines pathologies neurologiques humaines et enfin, nous décrirons les éléments à connaître pour une réalisation optimale d'IRM sur des ovins *in* ou *ex vivo*.

Dans une seconde partie expérimentale, nous présenterons un atlas 2D d'encéphale du Mouton issu de coupes obtenues par IRM 3 Tesla, ainsi qu'une analyse paramétrique des images obtenues par séquence DTI.

PARTIE THEORIQUE

1 Bases de l'imagerie par résonance magnétique

La compréhension et l'interprétation des images obtenues grâce à l'IRM nécessite de maîtriser certaines connaissances physiques parfois complexes. Dans cette partie, les principales notions de base nécessaires à la lecture de cette thèse seront donc abordées.

1.1 Définition

L'IRM est une technique de diagnostic médical récente et puissante qui fournit des images tridimensionnelles et en coupe de grande précision anatomique. Non invasive et sans effets secondaires connus, elle est fondée sur le phénomène physique de résonance magnétique nucléaire (RMN). La résonance magnétique est une réponse caractéristique d'un noyau à une perturbation de son alignement lorsqu'il est placé dans un champ magnétique externe intense.

Ce phénomène de résonance magnétique a été décrit pour la première fois par deux chercheurs en 1946. Les premières images humaines provenant d'une IRM ont, elles, été obtenues en 1976. L'IRM a ensuite connu un essor important et est rapidement devenue la méthode diagnostic de choix dans de nombreux domaines médicaux. De nos jours, de nombreuses séquences sont d'ailleurs possibles avec l'IRM, notamment les images anatomiques détaillées (IRM structurale), les images d'activité fonctionnelle (IRM fonctionnelle), les images de diffusion des molécules d'eau (IRM de diffusion) et bien d'autres encore.

1.2 Phénomène de RMN et acquisition du signal

L'IRM est une technique d'imagerie fondée sur un phénomène physique qui exploite les propriétés magnétiques des atomes des tissus biologiques [2], [3], [4].

1.2.1 Magnétisme moléculaire et résonance magnétique

1.2.1.1 Origine de la résonance magnétique

Le noyau des atomes est composé de neutrons et de protons. Ces nucléons sont tous animés d'un mouvement individuel de rotation complexe autour d'un axe passant par leur propre centre. Une particule qui tourne induit autour d'elle un « moment cinétique » ou « spin » représenté par le vecteur \vec{S} . Une charge qui tourne sur elle-même induit systématiquement autour d'elle un champ magnétique appelé « moment magnétique »

(équivalent à un champ magnétique de très faible intensité) représenté par un vecteur d'aimantation microscopique $\vec{\mu}$ (Figure 1). Ce moment magnétique est lié au spin et est également aligné sur son axe de rotation. Le principe de l'IRM est basé sur ce mouvement de rotation.

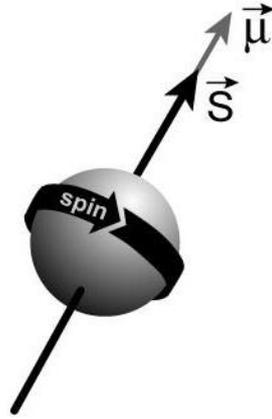


Figure 1. Moment magnétique et vecteur d'aimantation microscopique [2].

Les noyaux des atomes ayant un nombre pair de nucléons ont un moment magnétique global nul puisque les protons et les neutrons s'associent deux par deux, afin de maintenir une cohésion énergétique au sein du noyau, et sont donc non exploitables. En revanche, les noyaux des atomes présentant un nombre de masse impair (i.e. somme du nombre de protons et de neutrons impaire) ont un moment magnétique global non nul, rendant ainsi possible l'expérience de RMN. Ce moment magnétique non nul est nommé moment magnétique intrinsèque ou élémentaire. Parmi ces atomes, on trouve le noyau d'hydrogène (^1H , constitué d'un seul proton). L'atome d'hydrogène est très présent dans les systèmes biologiques et représente d'ailleurs 63% des atomes du corps humain [5]. Le noyau d'hydrogène n'est composé que d'un seul proton ce qui fait que son moment magnétique élémentaire protonique est élevé. Enfin, l'hydrogène donne lieu à un phénomène de résonance très net. Par ses caractéristiques, l'hydrogène est donc un atome de choix pour l'étude des tissus biologiques comme, par exemple, le cerveau humain.

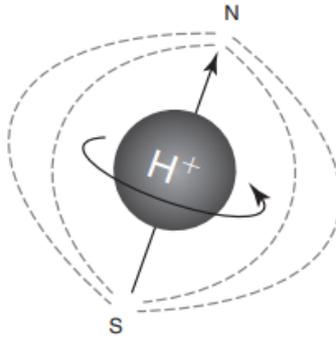


Figure 2. Spin individuel du proton d'hydrogène [6].

Dans un échantillon tissulaire on peut donc définir un vecteur d'aimantation totale \vec{M} qui est la somme vectorielle de tous les moments élémentaires $\vec{\mu}$. Cependant, en l'absence de champ magnétique externe, les protons sont répartis aléatoirement dans toutes les directions de l'espace (Figure 3), ainsi, la somme de leurs champs magnétiques est donc nulle.

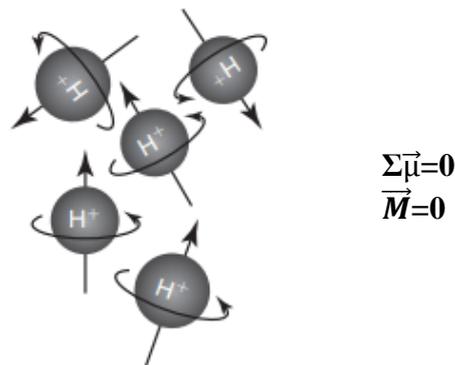


Figure 3. Spin des protons d'hydrogène dans les tissus en l'absence de champ magnétique externe [6].

1.2.1.2 Le champ magnétique B_0

Afin d'aligner les protons, il est donc nécessaire d'appliquer un champ magnétique externe statique élevé noté « B_0 ». Ce champ magnétique B_0 , produit par l'aimant supraconducteur de l'IRM, va provoquer l'alignement des protons dans son axe. Cet alignement se fait, pour la première partie des spins, dans le même sens que \vec{B}_0 (dit parallèle), et pour la seconde partie, dans le sens inverse (dit antiparallèle). Pour l'ensemble des protons placés dans ce champ magnétique, il existe une proportion très légèrement plus importante de spins parallèles que de spins antiparallèles (Figure 4).

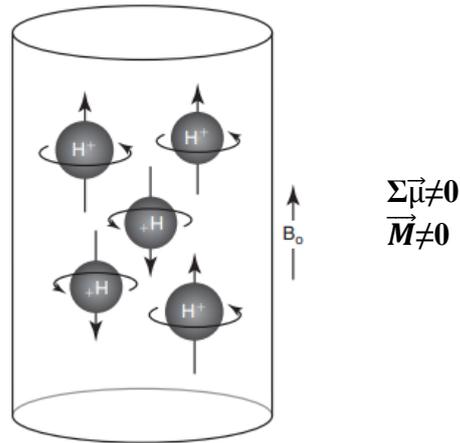


Figure 4. Protons dans un échantillon tissulaire en présence d'un champ magnétique B0 [5]

Cette différence suffit à produire un signal RMN et à entraîner l'apparition d'un vecteur d'aimantation macroscopique \vec{M} qui est aligné sur \vec{B}_0 . On appelle cet état, l'état d'équilibre.

Lorsque les protons sont soumis au champ B_0 , ils s'alignent mais ne sont pas statiques pour autant. On peut apparenter leur mouvement de rotation à celui d'une toupie qui bascule et reste en équilibre en rotation, avec un angle de rotation autour de l'axe B_0 . On appelle ce mouvement le « mouvement de précession ». Les protons oscillent donc autour de l'axe du champ B_0 à une fréquence appelée « fréquence de Larmor ». Cette vitesse de précession est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique. On la caractérise par la fréquence de précession ω_0 (nombre de rotation par seconde) : $\omega_0 = \gamma B_0$.

Le moment magnétique des protons peut être décomposé en une composante longitudinale et une composante transversale. Le mouvement de précession se traduit ainsi par une rotation de la composante transversale autour de l'axe longitudinal. A l'état d'équilibre, les protons ne sont pas en phase, ce qui signifie qu'il y a une dispersion de leurs composantes transversales élémentaires. Ainsi, le vecteur d'aimantation global macroscopique \vec{M} (aligné sur \vec{B}_0) ne présente pas de composante transversale.

1.2.1.3 Excitation par onde radiofréquence

Le champ magnétique produit par \vec{B}_0 est très largement supérieur à l'aimantation induite par les spins, il est donc impossible de mesurer cette aimantation. Pour pouvoir la mesurer, il est nécessaire de perturber l'état d'équilibre grâce à une onde radiofréquence (RF), champ magnétique oscillant noté « B_1 ». L'application de cette impulsion radiofréquence (RF de 90°

ou 180°) va permettre de faire basculer le vecteur d'aimantation \vec{M} dans le plan transverse. L'onde RF appliquée va entraîner un phénomène de résonance seulement si sa fréquence est la même que celle de précession des spins (fréquence Larmor). Elle va donc apporter de l'énergie au système de spins : c'est la phase d'excitation. Lorsque l'émission de radiofréquence est interrompue, le système va restituer l'énergie absorbée pour retourner à l'état d'équilibre de départ : c'est la phase de relaxation.

Le phénomène de relaxation est défini par deux éléments : la relaxation longitudinale (selon l'axe du champ B_0), caractérisée par le temps de relaxation T1 et la relaxation transversale, caractérisée par le temps de relaxation T2.

1.2.2 Acquisition du signal

La relaxation correspond au retour à l'équilibre de l'aimantation tissulaire. Elle s'accompagne d'une émission d'énergie restituée par les protons sous la forme d'ondes RF qui constituent le signal qui va être capté par l'antenne réceptrice de l'IRM et permettre l'acquisition d'images exploitables. Dans une expérience simple de RMN, un échantillon est placé dans un champ magnétique fort (B_0) à l'intérieur d'un solénoïde¹ dont l'axe est perpendiculaire au champ principal. Le solénoïde est ensuite excité par une courte impulsion rectangulaire à la fréquence de Larmor des noyaux d'intérêt, irradiant ainsi l'échantillon et faisant basculer la magnétisation globale dans le plan transversal. Immédiatement après l'excitation, le solénoïde commence à recevoir l'énergie émise en retour de l'échantillon. En IRM, c'est la composante de magnétisation transversale qui donne naissance au signal détecté. Le solénoïde est réglé sur la fréquence de résonance d'intérêt. Le signal émis est appelé « free induction decay » (FID).

Le schéma ci-dessous reprend, de façon schématique et simplifiée, l'ensemble des principes que nous venons d'étudier.

¹ Un solénoïde est une bobine allongée constituée par un fil conducteur enroulé qui crée sur son axe un champ magnétique quand il est parcouru par un courant.

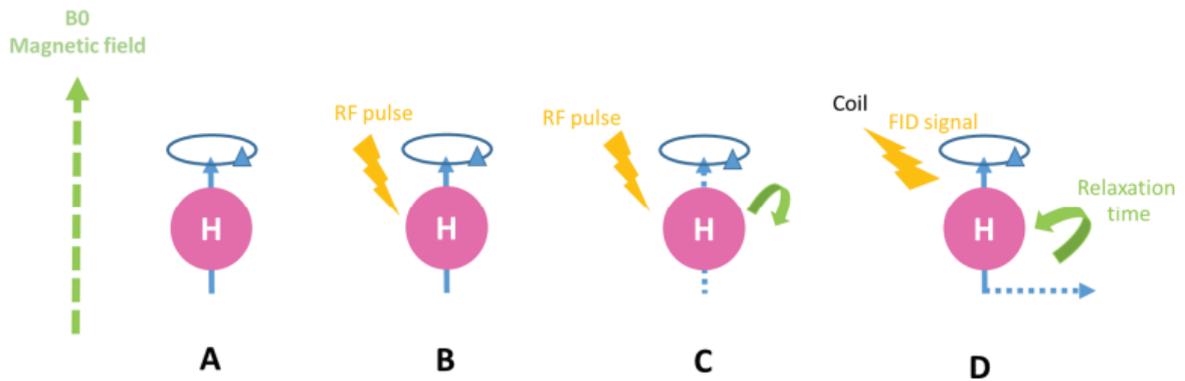


Figure 5. Représentation schématique du principe de l'IRM.

(A) Lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique intense B_0 , les protons s'alignent parallèlement ou antiparallèlement avec la direction de B_0 . (B) L'application d'une impulsion RF B_1 perpendiculaire à B_0 et à la même fréquence que B_0 permet à l'aimantation longitudinale de s'écarter de B_0 (résonance). (C) Une fois que le signal RF s'arrête, \vec{M} revient à l'équilibre (relaxation) de telle sorte qu'il soit aligné à nouveau sur B_0 . (D) Au cours de la relaxation, les protons perdent de l'énergie en émettant un signal RF (Free Induction Decay - FID) qui peut être ensuite mesuré par une antenne placée autour de l'objet à étudier et reconstruit par la suite pour obtenir des images IRM 3D en niveaux de gris [7].

1.3 Pondérations T1 et T2

Deux composantes sont donc distinguées lors de la phase de relaxation : la relaxation longitudinale qui correspond à la repousse de la composante longitudinale, et la relaxation transversale, qui correspond à la chute de l'aimantation transversale. La repousse longitudinale correspond au retour au niveau de basse énergie (sens "parallèle") des spins excités. C'est ce que l'on appelle la relaxation « spin-réseau ». La croissance de l'aimantation longitudinale lors de la relaxation suit une courbe exponentielle. Elle est caractérisée par le temps T1 (Figure 6).

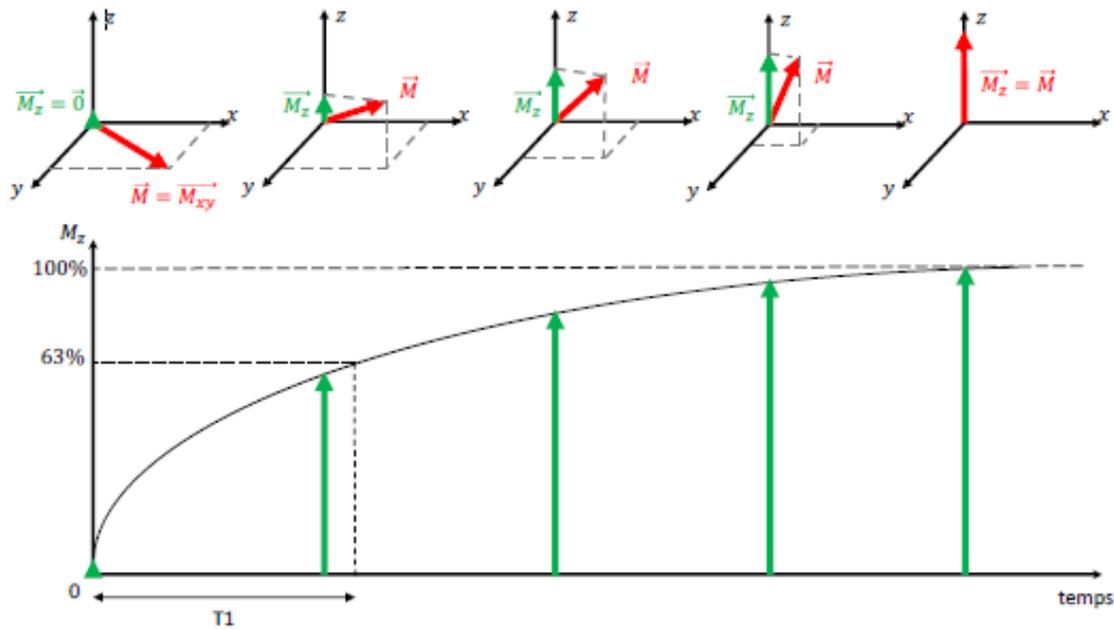


Figure 6. Repousse du vecteur d'aimantation longitudinale (M_z). Le temps T_1 représente le temps nécessaire à l'aimantation longitudinale pour retrouver 63% de son état initial après une impulsion RF de 90° [3].

Le T_1 est caractéristique de chaque tissu et dépend de la mobilité des molécules où sont engagés les noyaux d'hydrogène.

En parallèle de la repousse de l'aimantation longitudinale, on observe une disparition progressive de l'aimantation transversale. La relaxation transversale suit une courbe exponentielle décroissante et elle est caractérisée par le temps T_2 . La relaxation transversale est nommée relaxation « spin-spin » car elle résulte de l'interaction des spins des protons entre eux (Figure 7).

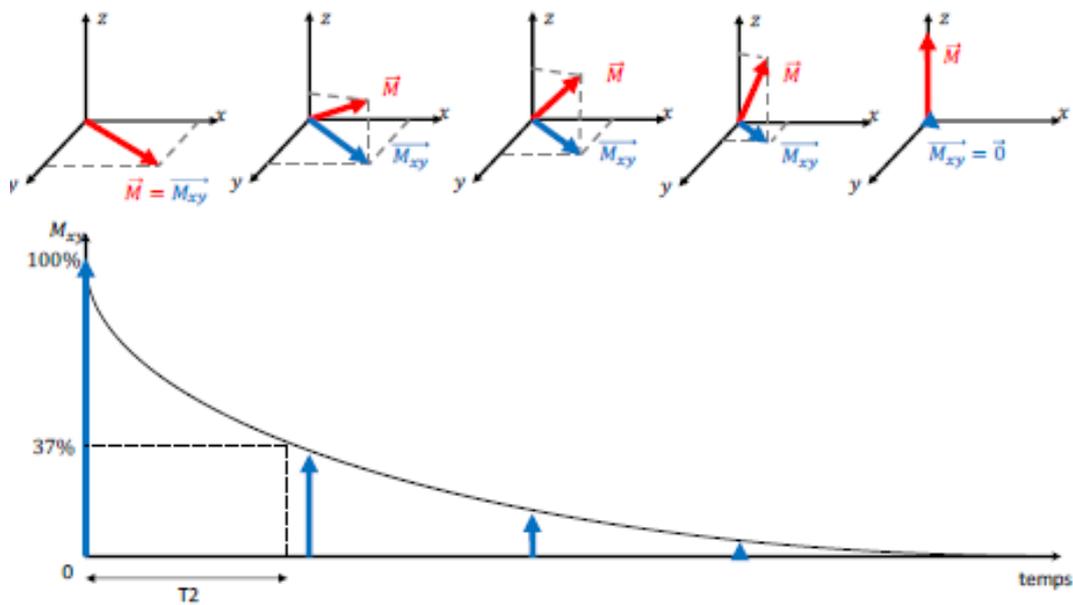


Figure 7. Disparition de l'aimantation transversale M_{xy} . Le temps T_2 correspond au temps nécessaire à l'aimantation pour décroître de 63% [3].

Les trois principaux compartiments du cerveau (substance blanche, substance grise et liquide cérébro-spinal (LCS)) ont des temps de relaxation T_1 et T_2 différents.

1.4 Séquence écho de spin

La séquence d'écho de spin est historiquement la première séquence IRM développée. Cette séquence est basée sur deux principes fondamentaux ; le temps de répétition (TR) qui est l'intervalle de temps entre deux impulsions de 90° et le temps d'écho (TE) qui est l'intervalle de temps entre l'excitation et la survenue du signal IRM. Le TE et le TR s'expriment en millisecondes (ms).

Afin de réaliser cette séquence IRM, une impulsion RF de 90° est appliquée pour entraîner une bascule du vecteur d'aimantation tissulaire global correspondant à une disparition de l'aimantation longitudinale et à l'apparition d'une aimantation transversale. Ici on applique uniquement une RF de 90° , les protons vont rapidement se déphaser à cause des inhomogénéités de champ. Afin de s'affranchir de ce problème, on applique une impulsion de 180° après une impulsion de 90° (Figure 9). Ainsi les protons qui précédaient les derniers précèdent les premiers et inversement ce qui rétablit la cohérence de phase (rephasage). L'application de cette RF de 180° se fait au temps $TE/2$.

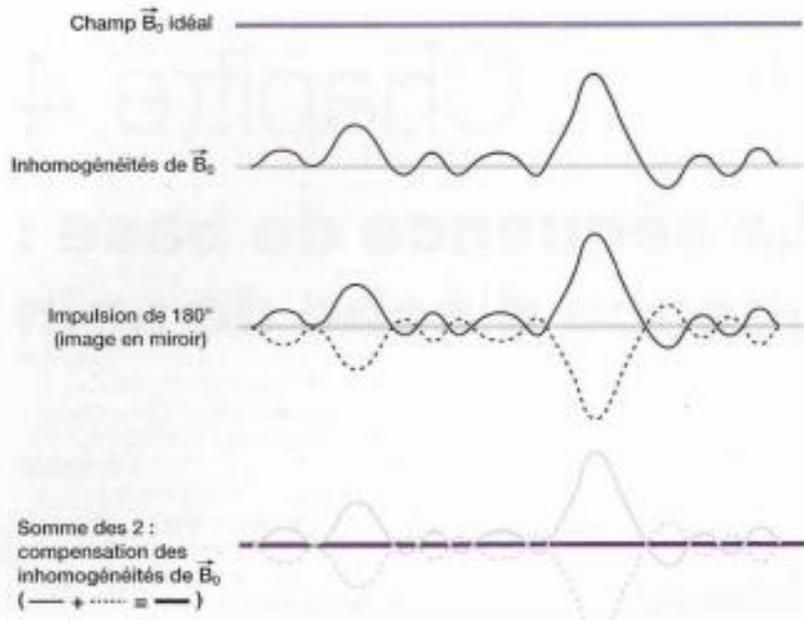


Figure 8. Intérêt de l'impulsion RF de 180° dans l'affranchissement des inhomogénéités propres à B_0 [2].

La séquence écho de spin commence donc par basculer l'ensemble des spins par l'application de l'impulsion radiofréquence de 90°. Les spins, sous l'effet des inhomogénéités de champ vont alors se déphaser jusqu'au temps $TE/2$ où l'on applique une nouvelle impulsion de 180°. Cette impulsion va permettre d'inverser les phases de l'ensemble des spins dans le plan transverse. Au temps d'écho (TE), les protons sont donc rephasés (Figure 10).

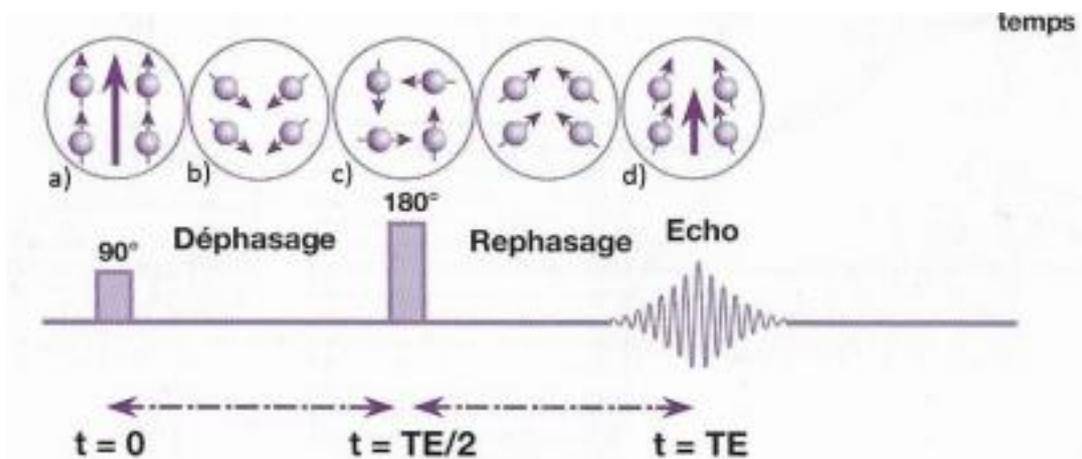


Figure 9. Chronologie des évènements au cours du phénomène de l'écho de spin. a) impulsion de 90°, les spins sont en phase, b) les spins se déphasent rapidement, c) impulsion de 180°, les spins se rephasent, d) les spins sont rephasés et le signal apparaît sous forme d'écho et peut être mesuré [2].

Ainsi, pour « pondérer » une séquence IRM en T1, on va utiliser un TR et un TE courts. Sur les images pondérées en T1, la substance blanche (qui possède un T1 court) est plus claire que la substance grise et le LCS, lui, est hypointense.

Pour pondérer une séquence en T2, on utilise un TE et un TR longs. Sur les images pondérées en T2, le LCS présente un hypersignal et la substance grise est plus claire que la substance blanche (Figure 10).

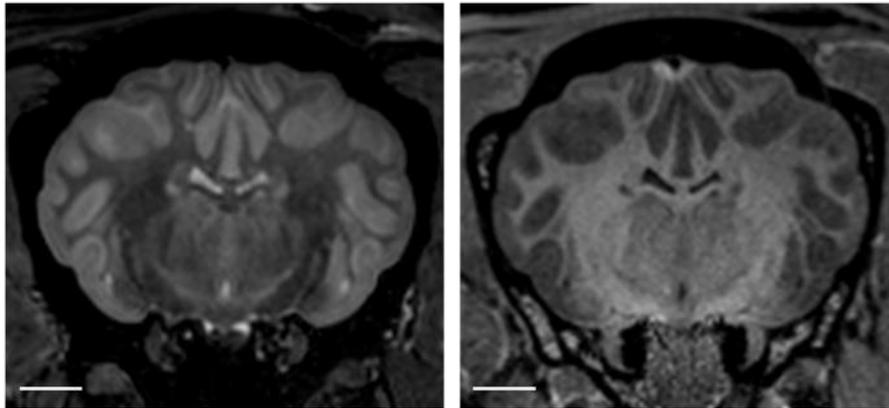


Figure 10. Coupes transversales d'encéphale ovin en pondération T2 à gauche et T1 à droite (Images obtenues à l'institut des sciences du cerveau de Toulouse).

1.5 Imagerie de diffusion

L'imagerie de diffusion permet d'apporter des informations non disponibles sur les séquences d'IRM conventionnelle [2], [3], [8].

1.5.1 *Mouvement brownien et phénomène de diffusion*

L'imagerie de diffusion est fondée sur la mise en évidence des mouvements microscopiques de l'eau dans les tissus biologiques. Ce mouvement, appelé « mouvement brownien », représente le mouvement permanent auquel sont soumises les molécules d'eau dans un milieu biologique quel qu'il soit. Ces mouvements sont aléatoires mais leur intensité est fortement liée à la structure du milieu considéré. Ils caractérisent ainsi ce que nous appelons la diffusion moléculaire. La diffusion est donc fonction des caractéristiques physiques du milieu où se trouve le matériel étudié, en l'occurrence ici, les molécules d'eau. De cette façon, plus l'eau est sous forme libre dans un secteur, plus ses mouvements sont facilités et plus l'agitation moléculaire est importante, on parlera donc ici de diffusion élevée. Au contraire, si des obstacles, comme des fibres par exemple, s'opposent à ces mouvements, l'agitation moléculaire sera restreinte, on parlera alors de diffusion réduite.

S'intéresser à la diffusion intracérébrale des molécules d'eau peut donc permettre d'apporter des informations essentielles sur la composition ou l'intégrité des différents tissus. Le principe de l'IRM, fondé sur la mesure des protons de l'eau, est ainsi l'outil de référence pour l'analyse de cette diffusion.

1.5.2 Séquences pondérées en diffusion

L'objectif des séquences pondérées en diffusion est d'obtenir des images dont le contraste est influencé par les différences de mobilité de molécule d'eau. Ceci est réalisé en ajoutant des gradients de diffusion de part et d'autre de l'impulsion de 180° dans la phase préparatoire d'une séquence d'imagerie, le plus souvent de type SE-EPI (préparation écho de spin – imagerie ultra-rapide écho planar) pondérées T2.

1.5.3 Diffusion isotrope et anisotrope

Isotrope vient du grec « *isos* » qui signifie « égal » et « *tropos* » qui signifie « direction ». Anisotrope est le contraire d'isotrope [4], [9].

En l'absence de restriction, en IRM de diffusion, on observe un processus de diffusion isotrope, ce qui signifie que les molécules ont la même probabilité de se diriger dans toute direction de l'espace. Le libre parcours moyen des molécules d'eau est donc identique quelle que soit la direction. La diffusion est ainsi libre et isotrope dans le Liquide Cérébro-Spinal (LCS) et dans la Substance Grise (SG). A l'inverse, il est possible que quel que soit la direction de l'espace, les molécules d'eau aient un déplacement limité, en raison de nombreux obstacles (protéines, cellules). C'est la diffusion restreinte isotrope que l'on peut rencontrer dans un abcès par exemple. Enfin, au sein de la substance blanche, constituée d'axones myélinisés organisés en faisceaux de fibres parallèles, la gaine de myéline entourant l'axone crée une barrière quasi-infranchissable. D'une part, les molécules à l'intérieur des axones ne peuvent que suivre la direction principale des axones et d'autre part, les molécules situées à l'extérieur des axones doivent contourner ces axones. La substance blanche représente donc un milieu restreint dans lequel on observe un mouvement anisotrope des molécules d'eau, ce qui signifie que les molécules n'ont pas la même probabilité de se diriger dans toute direction de l'espace. Le libre parcours moyen des molécules d'eau est donc plus élevé dans la direction des fibres que dans toute autre direction.

Pour résumer, la diffusion est isotrope si elle peut s'effectuer librement dans toutes les directions de l'espace et elle est anisotrope si elle se fait de façon préférentielle dans une direction donnée comme, par exemple, dans les fibres nerveuses de la substance blanche. L'IRM de diffusion proprement dite (DWI pour *Diffusion Weighted Imaging*) permet de mettre en évidence uniquement les différences de mobilité des molécules d'eau mais sans considération sur la direction de leurs déplacements. L'accident ischémique cérébral a été la première application de la DWI, depuis elle est devenue un outil essentiel dans le diagnostic de certaines tumeurs cérébrales, d'abcès cérébraux mais également dans le diagnostic précoce de la Maladie de Creutzfeld-Jakob (MCJ) [4] (Figure 11).

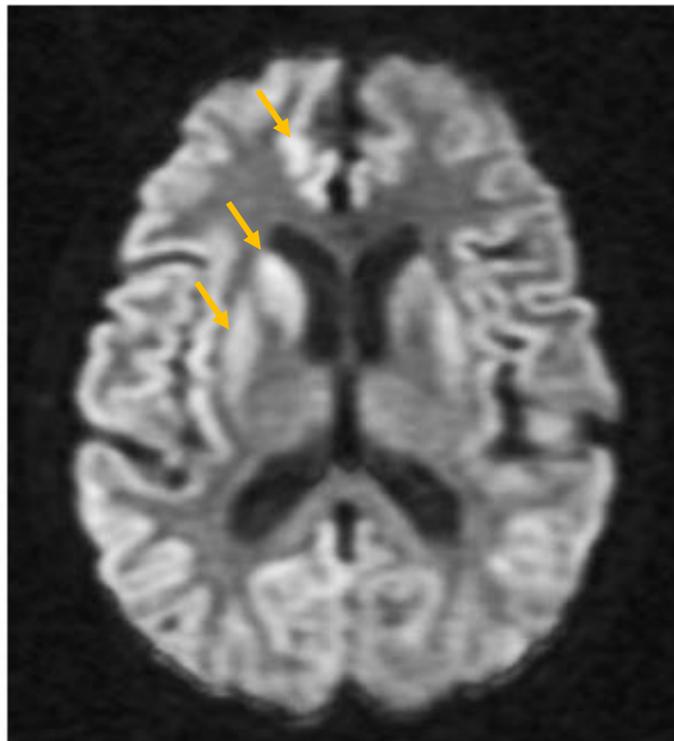


Figure 11. Coupe axiale pondérée en diffusion d'une patiente suspectée d'être atteinte de la MCJ. L'IRM montre un hypersignal bilatéral de la tête du noyau caudé et du putamen prédominant sur l'hémisphère droit ainsi qu'un hypersignal du ruban cortical prédominant à droite (flèches oranges) [10].

Dans une séquence pondérée en diffusion, le LCS apparaît en hyposignal, car la mobilité des molécules d'eau y est élevée. A contrario, dans le cas d'un accident vasculaire ischémique à la phase aiguë par exemple, du fait d'une importante diminution de la mobilité des molécules d'eau, la zone atteinte apparaît en hypersignal.

Un second type d'imagerie de diffusion existe et son objectif est d'obtenir plus d'informations intrinsèques à chaque voxel² que n'en fournit la DWI, comme la nature de la diffusion et sa direction principale. C'est ici qu'entre en jeu la DTI (*Diffusion Tensor Imaging*), l'imagerie du tenseur de diffusion.

1.5.4 Imagerie du tenseur³ de diffusion (DTI)

L'imagerie du tenseur de diffusion (DTI pour *Diffusion Tensor Imaging*) est une évolution du principe de diffusion. Elle met à profit le principe de diffusion anisotrope décrit dans la partie précédente et permet donc de distinguer et de quantifier principalement des anomalies de la substance blanche, non visibles en imagerie conventionnelle [2], [4], [11], [12].

1.5.4.1 Fraction d'anisotropie et diffusivité moyenne

L'IRM du tenseur de diffusion étudie les directions des mouvements des molécules d'eau, pour déterminer si elles diffusent dans toutes les directions ou pas (fraction d'anisotropie), ou pour essayer de donner la direction de diffusion privilégiée. Avec le tenseur de diffusion, il est possible d'extraire deux indices quantitatifs qui vont permettre de connaître l'état microstructural de nos tissus par l'intermédiaire de calculs.

Le premier de ces indices est la fraction d'anisotropie (FA). La FA représente la fraction du tenseur pouvant être affectée à la diffusion anisotrope (directionnelle) [13], [14], [15]. En effet la diffusion dans la substance blanche des molécules d'eau est extrêmement anisotrope, et une altération de ce réseau de fibres va entraîner une baisse de fraction d'anisotropie. Ainsi, la FA est généralement plus élevée dans la SB, dans laquelle la diffusion est limitée par les gaines de myéline des axones, en particulier dans les régions compactes à alignement uniforme des fibres, comme le corps calleux, alors que la diffusion dans la GM est plus isotrope. La FA varie entre 0, pour une diffusion isotrope, et 1 dans un milieu totalement anisotrope.

Le second indice est la diffusivité moyenne (MD pour *Mean Diffusivity*). La MD est une moyenne des trois axes de l'ellipsoïde de diffusion et reflète le taux de diffusion de l'eau dans un voxel, indépendamment de la direction. Cet indice permet donc d'avoir une estimation de la diffusion des molécules d'eau au sein d'un voxel. Si le mouvement des molécules d'eau est

² Un voxel est le volume de tissu qui est représenté sur le pixel qui lui correspond dans l'image, c'est un pixel en 3D.

³ Les tenseurs sont des objets mathématiques issus de l'algèbre multilinéaire permettant de généraliser les vecteurs.

restreint, la diffusivité moyenne sera faible (notamment dans la substance blanche), à l'inverse si le mouvement des molécules d'eau est relativement libre, donc sans obstacles, la valeur de diffusivité moyenne sera plus élevée (par exemple dans les ventricules). L'intérêt de calculer la MD est d'obtenir une estimation de l'état de l'intégrité microstructurale des tissus. En effet, plus le tissu va être altéré, moins il y aura d'obstacles et plus la diffusion au sein de ce tissu va être importante, augmentant ainsi la MD.

Grâce à ces deux indices, il est possible de réaliser des images paramétriques appelées « cartes paramétriques » de FA ou de MD. Une image paramétrique de MD se rapproche d'une image pondérée en diffusion mais avec un hypersignal pour les zones à forte diffusion (Figure 12).

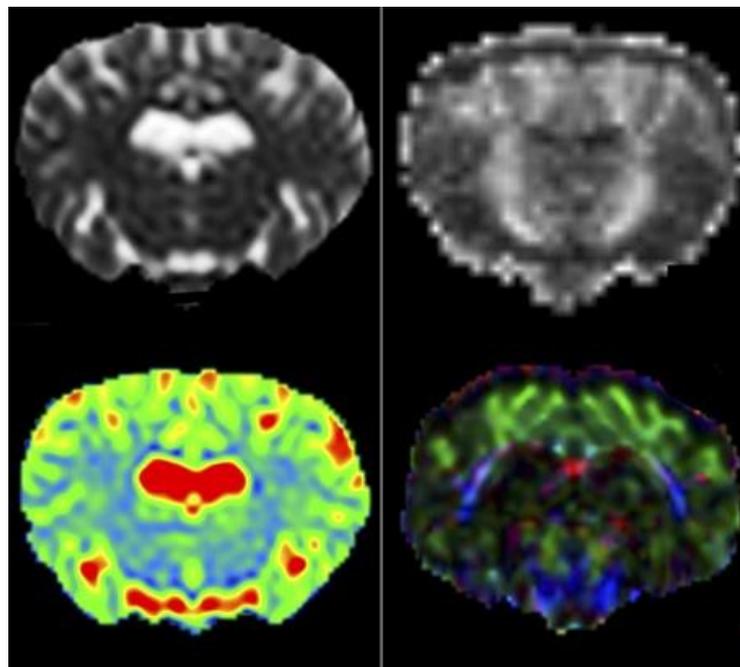


Figure 12. Cartes dérivées de la DTI d'un encéphale ovin. A gauche carte de MD et à droite carte de FA. La ligne inférieure représente les mêmes cartes mais colorées selon la valeur de la diffusion (en $\text{mm}^2 / \text{s} \times 10^{-3}$) pour la MD et selon la direction des fibres pour la FA (sens rostral-caudal en bleu, sens dorsal-ventral en vert et sens médial-latéral en rouge [16]).

1.5.4.2 Tractographie

Une évolution de la technique de la DTI est la tractographie « (appelée Diffusion Tensor Tractography » ou DTT), dont le principe est de reconstruire les fibres de substance blanche à l'aide des informations obtenues sur la diffusion. La tractographie de fibres est la seule

méthode donnant un aperçu *in vivo* indirect de la trajectoire des fibres nerveuses. La tractographie présente de nombreux intérêts comme par exemple dans le bilan préchirurgical des lésions cérébrales, les lésions médullaires ou les lésions du nerf optique [17].

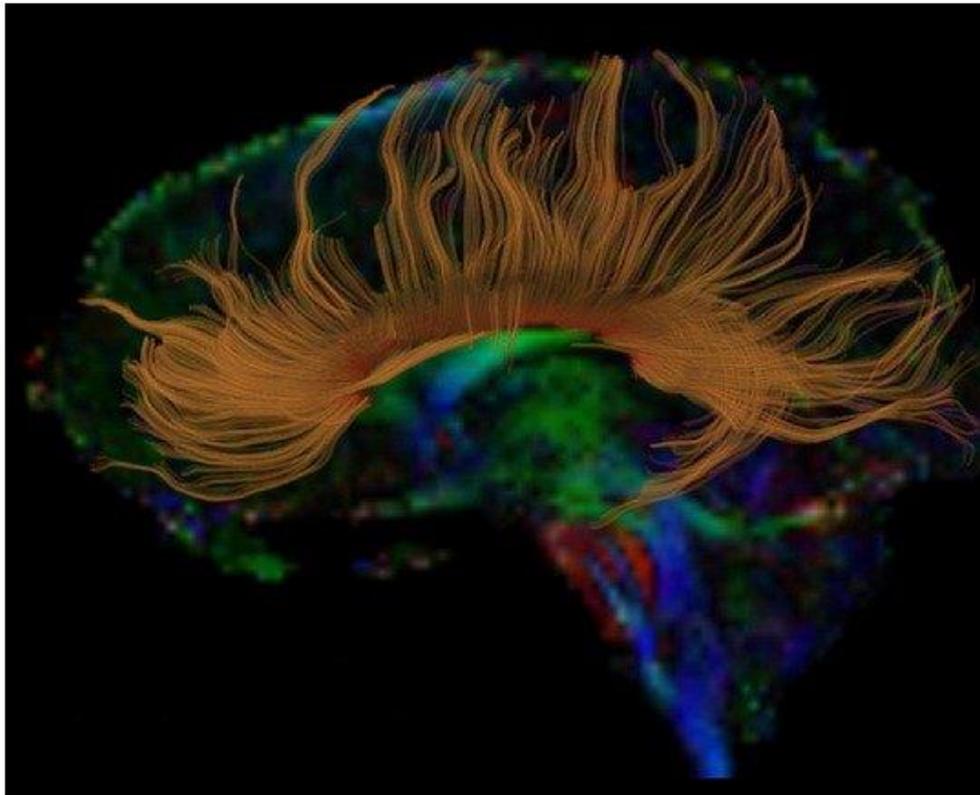


Figure 13. Tractographie des fibres du corps calleux d'un cerveau humain [18].

L'IRM, comme nous venons de le voir, est un système d'imagerie complexe qui représente un outil indispensable dans le diagnostic de nombreuses maladies cérébrales. Les évolutions du principe de base de l'IRM permettent à présent la multiplication de ses applications en médecine et en recherche, ouvrant ainsi la porte à d'importants progrès.

Avant de réaliser des études cliniques chez l'Homme, il est nécessaire de passer par des modèles animaux se rapprochant le plus possible des systèmes humains afin d'extrapoler plus aisément les résultats obtenus. Ainsi, les « grands animaux domestiques », dont l'utilisation est en plein essor ces dernières années, semblent être des modèles de choix pour la réalisation d'études précliniques.

2 Le modèle ovin en neuroimagerie translationnelle

2.1 Intérêts d'un modèle « grand animal domestique »

Du ver nématode à la mouche drosophile en passant par les rongeurs et primates, les modèles animaux se sont largement diversifiés et spécialisés au cours des dernières décennies. Bien que ne représentant pas la majorité en nombre (Figure 14), les modèles « grands animaux domestiques » (porcs, ruminants domestiques, carnivores domestiques et cheval) sont en plein essor car ils possèdent un nombre d'atouts non négligeable, en particulier pour la recherche en neuroscience.

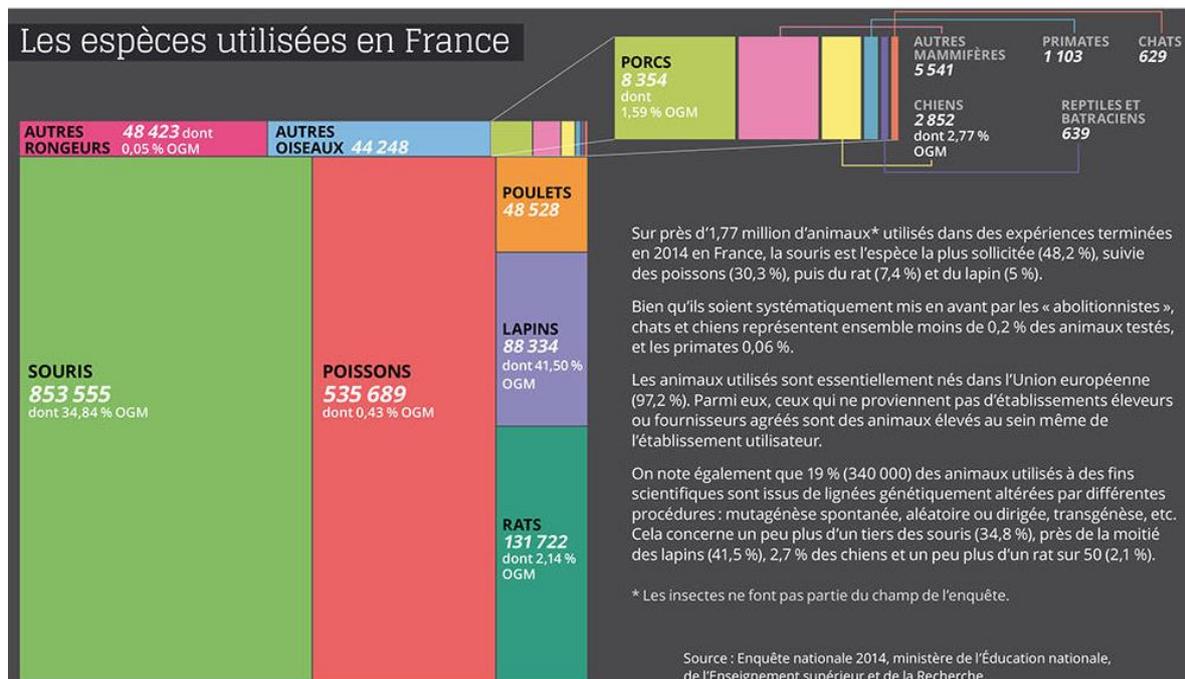


Figure 14. Les espèces utilisées pour l'expérimentation en France (Source : lejournal.cnrs.fr)

La proximité génétique :

Tout d'abord, concernant la génétique au sens large, les rongeurs ont environ 48 à 66 % d'homologie avec l'Homme, alors que les porcs en ont près de 80 % [19], [20].

Les similitudes anatomiques cérébrales :

Ensuite, les grands animaux domestiques représentent un intérêt majeur dans le développement de la recherche actuellement par les similitudes anatomiques qu'ils partagent avec l'espèce humaine. En effet, les cerveaux des grands animaux domestiques sont proches des cerveaux humains ; par leur volume, par leur degré de gyration corticale (Figure 15) et par le ratio Substance Grise (SG)/Substance Blanche (SB) [19], [21], (Tableau 1). Le cerveau

du rat, par exemple, est plutôt éloigné du cerveau humain. Il est environ 230 fois plus petit [22], il est lissencéphalique et présente un ratio SG/SB élevé. Il est donc très différent du cerveau humain [23].

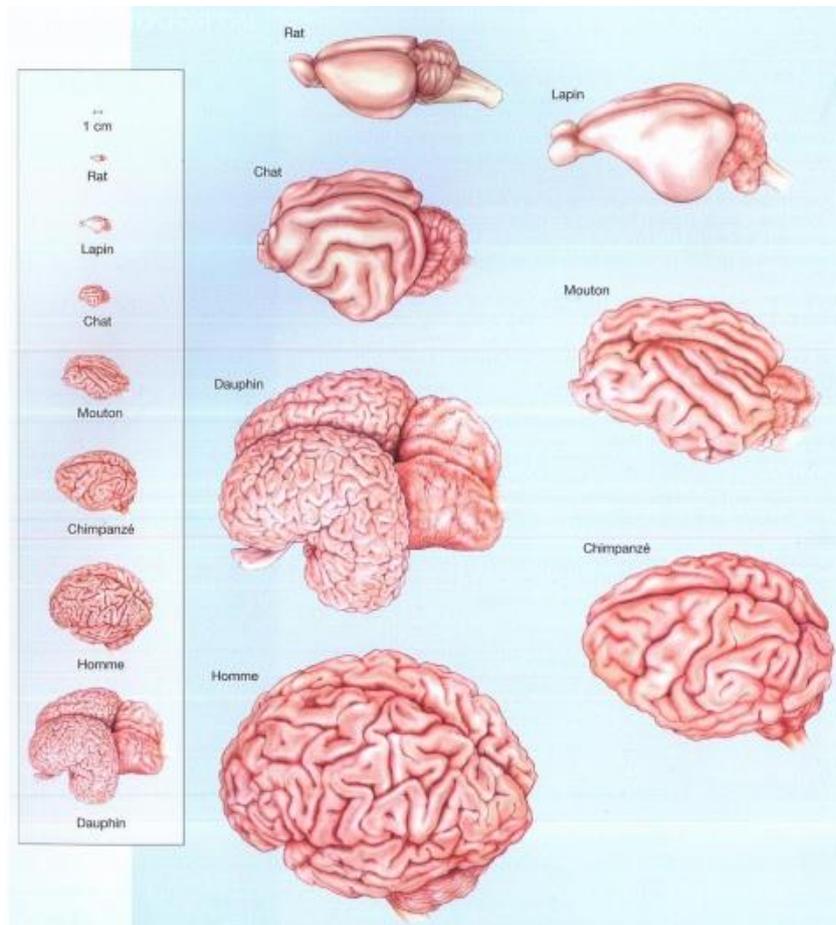


Figure 15. Encéphales humains et animaux, formes et tailles relatives [24]

Tableau 1. Ratio SG/SB chez plusieurs espèces en comparaison avec l'Homme [13], [14]

| Espèce | Ratio SG/SB |
|------------------|--------------------|
| Homme | 40/60 |
| Mouton | 57/43 |
| Chimpanzé | 61/39 |
| Chien | 65/35 |
| Rat | 86/14 |
| Souris | 90/10 |

Le tableau ci-dessus montre que les ratios SG/SB sont très différents entre les rongeurs et l'Homme, mais surtout, on remarque que parmi des espèces étudiées, le ratio le plus proche des humains est celui du Mouton.

De plus, chez les ovins, anatomiquement, les noyaux de la base⁴ sont proches de ceux de l'Homme avec les structures du noyau caudé et du putamen qui sont bien distinctes [25]. L'architecture du cervelet du Mouton est également morphologiquement similaire et bien que le tronc cérébral soit allongé, puisque c'est un quadrupède, on retrouve les mêmes noyaux que chez l'Homme. Par contre, la morphologie de l'hippocampe du Mouton diffère de celle de l'Homme puisqu'il a une composante à la fois dorsale et ventrale [26].

Le format:

Un autre atout majeur des grands animaux est également leur taille. Ce format important permet de réaliser des chirurgies très fines beaucoup plus facilement que sur des modèles plus petits. Par exemple, sur les ovins, il a été possible de prélever de la GnRH directement là où elle est libérée, dans le système porte hypophysaire [27], ce qui est impossible à réaliser sur des rongeurs. Le modèle ovin est d'ailleurs le *gold standard* utilisé en neuroendocrinologie. Leur taille permet de réaliser des séries de prélèvements sanguins ou de LCS à de faibles intervalles et sur une longue durée (toutes les 10 à 20 minutes pendant plus de 24 heures), sans affecter leur métabolisme de base [7].

La taille des organes de ce type de modèle permet également l'utilisation de matériel chirurgical, de cathéters et de dispositifs médicaux issus de la médecine humaine [28]. Ainsi la possibilité de mettre en place des cathéters permet l'administration de radiotraceurs, d'agents de contrastes souvent utilisés en imagerie et facilite aussi largement la mise en place de protocoles anesthésiques.

Le format des grands animaux domestiques permet également l'utilisation de scanners IRM cliniques de 1.5 ou 3 Tesla, contrairement aux petits animaux de type rongeurs pour lesquels il est nécessaire d'utiliser des scanners IRM haut-champs adaptés à leur format. Ce type d'imagerie appliqué aux petits modèles impose un gain en résolution considérable puisque les volumes à étudier sont jusqu'à 10 000 fois moins importants que chez l'Homme. Il est donc nécessaire d'appliquer des gradients de champs magnétiques adaptés et d'utiliser des champs magnétiques intenses. Par ailleurs, afin de conserver une sensibilité de détection raisonnable, il est nécessaire de faire un compromis entre la durée de l'acquisition et la résolution temporelle [29]. Ces contraintes liées à la petite taille de ces modèles rendent plus complexe la transposition des protocoles à l'Homme. De plus, les machines (IRM,

⁴ Les noyaux de la base sont un ensemble de structures sous-corticales constitué par des noyaux pairs.

scanners...) consacrées à la médecine humaine font l'objet de développement et de progrès permanents, ainsi les modèles « grands animaux » peuvent bénéficier des technologies les plus avancées comme l'IRM de diffusion par exemple.

L'utilisation des modèles « grands animaux » en imagerie permet donc que les protocoles utilisés dans la recherche préclinique puissent être modifiés et ensuite utilisés directement pour la recherche clinique chez l'Homme.

Cependant, quelques inconvénients à l'utilisation de ces « grands formats » sont à ne pas négliger. En effet, les manipulations de ces animaux impliquent de porter et déplacer des charges bien plus importantes que lors de l'utilisation des rongeurs. De plus, même si l'utilisation d'appareils d'imagerie d'humaine est un atout incontestable, il faut garder à l'esprit que cela va engendrer des procédures drastiques de nettoyage et de protection du matériel (risques de zoonoses, odeurs) et une organisation particulière (jours réservés aux animaux ou passage en fin de journée).

Les similitudes physiologiques :

Les ovins donnent naissance à des petits déjà complètement développés alors que la progéniture des rongeurs naît immature. Cette caractéristique a d'ailleurs permis d'étudier l'attachement mère-petit, fondé sur des processus de reconnaissance individuels [30].

L'espérance de vie est également bien plus longue chez les grands animaux domestiques que chez les rongeurs, ce qui permet de réaliser des études à beaucoup plus long terme. Par exemple, l'espérance de vie d'un mouton, dans des conditions d'élevage adaptées, est en moyenne de 10 ans [26]. Ainsi l'utilisation de ce type de modèle facilite la recherche en lien avec des pathologies neurologiques évolutives comme par exemple la maladie d'Alzheimer ou de Huntington.

Les grands modèles sont également des animaux diurnes, comme les humains, ce qui permet la mise en place d'études en lien avec des pathologies ayant des répercussions sur le sommeil ou sur les rythmes circadiens [25].

Enfin, les grands animaux domestiques peuvent développer spontanément ou de manière induite des maladies neurologiques similaires à leur équivalent humain et c'est en particulier le cas pour les ovins [31]. Cet aspect facilite grandement la réalisation des études portant sur ce type de maladie.

Bien que de nombreuses similitudes soient donc constatées chez les grands modèles et non retrouvées chez les rongeurs, il est à noter cependant que les connaissances actuelles sur

la biologie des rongeurs sont bien plus développées que celles sur les grands animaux domestiques et en particulier les animaux de rente. En effet, l'utilisation de ce type de modèle comme animaux de laboratoire, même si elle est en plein essor ces vingt dernières années, est encore quelque peu restreinte contrairement aux rongeurs.

Les considérations éthiques :

Les porcs et autres animaux de rente font partie des modèles grands animaux domestiques et, contrairement aux chiens ou aux chevaux, ils font l'objet, aux yeux du public de moins de considérations éthiques.

La diversité génétique :

Les animaux de rente sont également relativement moins consanguins que les rongeurs qui eux sont issus d'une population fermée. Cette mixité confère un avantage au modèle « grands animaux » puisqu'ils se rapprochent ainsi de la diversité humaine. Cette variabilité génétique est aussi un inconvénient puisqu'elle nécessite d'augmenter drastiquement la taille des échantillons utilisés pour les études afin d'essayer de s'affranchir des biais potentiels liés justement à cette variabilité individuelle. L'augmentation de la taille des échantillons est forcément liée à une augmentation non négligeable des coûts [32].

La domestication :

Ces grands modèles sont des animaux domestiques et donc habitués à la présence humaine, ce qui rend les manipulations plus simples et moins stressantes. Cet aspect est primordial dans le contexte actuel des préoccupations éthiques grandissantes.

Concernant plus particulièrement les moutons, il est à noter que leur instinct grégaire permet la mise en place d'études nécessitant un échantillon important sans engendrer de contraintes trop importantes d'installation. A contrario, cet instinct empêche de garder un ovine à l'isolement sur une longue période.

Des atouts économiques :

Les ovins et autres animaux de rente sont facilement disponibles et leur élevage est en général plutôt simple; ils peuvent être élevés en extérieur, nécessitent peu d'infrastructures et supportent une large gamme de températures. Ainsi le coût des installations nécessaires pour

la réalisation d'une étude avec des ovins, par exemple, serait moindre en comparaison de celles nécessaires pour les primates non humains.

Les fonctions cognitives :

L'utilisation d'animaux comme modèles pour l'étude de maladies neurodégénératives humaines ayant un impact sur les fonctions cognitives nécessite que ces mêmes animaux soient capables d'exprimer ces fonctions. Ceci a été testé chez le Mouton et a montré des résultats positifs. Ainsi les ovins sont capables d'effectuer avec succès les principaux tests cognitifs et représentent ainsi un modèle permettant de quantifier les dysfonctionnements cognitifs rencontrés dans certaines maladies neurodégénératives [21].

Les modèles grands animaux domestiques et plus particulièrement les ovins, représentent donc, à travers l'ensemble des aspects que nous venons de voir, un outil majeur pour l'étude et la compréhension des mécanismes de certaines maladies.

A ce titre, depuis une vingtaine d'années, les ovins sont utilisés comme modèle pour étudier l'épilepsie [33], l'accident vasculaire cérébral [34] et le traumatisme crânien [35]. Mais ils sont également un modèle précieux dans l'étude de certaines pathologies neurodégénératives que nous allons détailler dans la partie suivante.

2.2 Les modèles ovins de maladies neurodégénératives humaines

Les ovins sont utilisés comme modèle dans l'étude de nombreuses maladies neurodégénératives présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Modèles ovins de maladies neurologiques humaines. Adapté à partir de [20]

| Nom de la maladie | Gène en cause | Modèle ovin |
|--|--|--|
| Forme juvénile de la céréoïde-lipofuscinose neuronale | CLN5, CLN6 | Modèle spontané de céréoïde-lipofuscinose neuronale |
| Céreoïde-lipofuscinose neuronale congénitale | CTSD (cathepsine D) | Modèle spontané de céréoïde-lipofuscinose neuronale |
| Maladie de McArdle | PYMG | Modèle spontané de maladie métabolique musculaire |
| Hypoplasie cérébelleuse et lissencéphalie héréditaire | RELN | Modèle spontané de lissencéphalie |
| Dystrophie neuroaxonale | ? | Modèle spontané de dystrophie musculaire |
| Maladie de gaucher | GBA | Modèle spontané de maladie de surcharge lysosomale |
| Maladie d'Alexander, adulte | GFAP | Modèle spontané avec inclusions intra-astrocytaires hyperéosinophiles (fibres de Rosenthal) |
| Maladie de Tay-Sachs | GM2A | Modèle spontané de gangliosidose |
| Maladie de Huntington | HTT | Modèle ovin transgénique (OVT73) |
| Encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible | Susceptibilité à la maladie liée aux formes alléliques de PRNP | Modèle infectieux d'encéphalopathie spongiforme bovine, de la maladie de Creutzfeldt-Jakob et d'autres maladies à prions |

Dans cette étude bibliographique, nous nous concentrerons plus particulièrement sur les ovins en tant que modèle spontané de maladies de surcharge lysosomale, en tant que modèle transgénique de maladie de Huntington et enfin en tant que modèle infectieux d'Encéphalopathie Subaiguë Spongiforme Transmissible (ESST).

2.2.1 Modèle ovin spontané de maladies neurologiques humaines : étude des maladies de surcharge lysosomale

2.2.1.1 Définition

Les maladies de surcharge lysosomale sont un ensemble de maladies génétiques rares dues à un défaut de catabolisme de certaines molécules complexes au sein du lysosome⁵. Dans le lysosome, il existe des protéines (enzymes) qui jouent un rôle majeur dans la transformation et la dégradation des métabolites. La majorité des maladies lysosomales est due à l'absence ou au déficit d'une enzyme. Certaines autres maladies lysosomales sont dues à la présence de protéines de transport défectueuses qui empêchent la sortie des molécules du lysosome. Ces deux mécanismes mènent tous deux à une accumulation de molécules qui auraient dû être normalement dégradées ou évacuées au sein du lysosome. Cette accumulation de métabolites au sein de la cellule va donc, à terme, empêcher le fonctionnement normal de certains organes. A ce jour, une quarantaine de maladies lysosomales ont été identifiées. Schématiquement, on distingue trois types principaux de maladies lysosomales en fonction du composé qui s'accumule : les sphingolipidoses, les oligosaccharidoses et les mucopolysaccharidoses [36]. Dans cette étude, nous n'aborderons que les pathologies de surcharge lysosomale pour lesquelles les ovins sont des modèles qui développent naturellement la maladie.

2.2.1.2 Les Céroïdes-Lipofuscinoses Neuronales (CLN)

Les Céroïdes-Lipofuscinoses Neuronales (CLN) sont un ensemble de maladies métaboliques héréditaires caractérisées par une accumulation de lipopigments fluorescents (lipofuscine et céroïde), notamment dans les neurones [37], [38]. L'incidence exacte des CLN chez l'Homme n'est pas connue, mais elle serait d'environ 1 sur 12 500 naissances dans les pays anglo-saxons [39]. Les principales caractéristiques de ces maladies sont présentées ci-dessous chez l'Homme, avant d'aborder le modèle ovin.

a. Etiologie

Il existe actuellement treize formes génétiques distinctes de la maladie et chacune porte le même nom que le gène en cause [40]. On regroupe souvent les variants selon leur âge d'apparition (formes congénitale, infantile, infantile tardive, juvénile et adulte). Le mode de transmission des CLN est toujours autosomique récessif sauf dans de très rares cas où il a été

⁵ Organite cellulaire contenant des enzymes qui ont pour fonction de dégrader des molécules complexes afin de les éliminer ou de les recycler.

montré que le mode de transmission avait été dominant mais uniquement dans des variants adultes [40].

b. Symptômes

Le tableau clinique est très hétérogène selon la forme développée, mais le noyau commun aux différentes formes est l'association de démence, de retard psychomoteur, d'une perte visuelle progressive et d'une épilepsie myoclinique. L'âge d'apparition de la maladie s'étend de la période néonatale à l'âge adulte jeune selon le variant. Le décès précoce est également un élément commun à toutes les formes [41].

c. Lésions

L'atrophie cérébrale marquée et l'accumulation de lipopigments auto-fluorescents dans les lysosomes des neurones et d'autres cellules sont les lésions communes à toutes les formes de CLN [42], [43], [44].

d. Le modèle ovin

Les ovins sont actuellement des modèles spontanés pour les mutations CLN5 (variant finlandais), CLN6 (variant indo-européen) et CTSD. Les mutations des gènes CLN5 et CLN6 sont principalement à l'origine de variantes du CLN tardif infantile [45]. La mutation CTSD est à l'origine de la forme congénitale.

En Nouvelle-Zélande, il y a deux troupeaux de moutons bien établis; South Hampshire [46] et Borderdale [47], portant respectivement les mutations naturelles des gènes CLN6 et CLN5 [48], [49]. Depuis plus de vingt ans, des études en lien avec ces variants de CLN sont menées sur ces troupeaux. Le modèle ovin spontané des CLN a ainsi contribué à des avancées significatives de la recherche en permettant tout d'abord l'identification du matériel stocké dans les lysosomes (lipofuscine) [50].

D'autres études menées sur des ovins atteints de la mutation CLN5 et CLN6 ont montré une atrophie corticale progressive marquée (en particulier du cortex moteur) associée à une conservation des structures sous corticales et du cervelet [51], [52], (Figure 16).

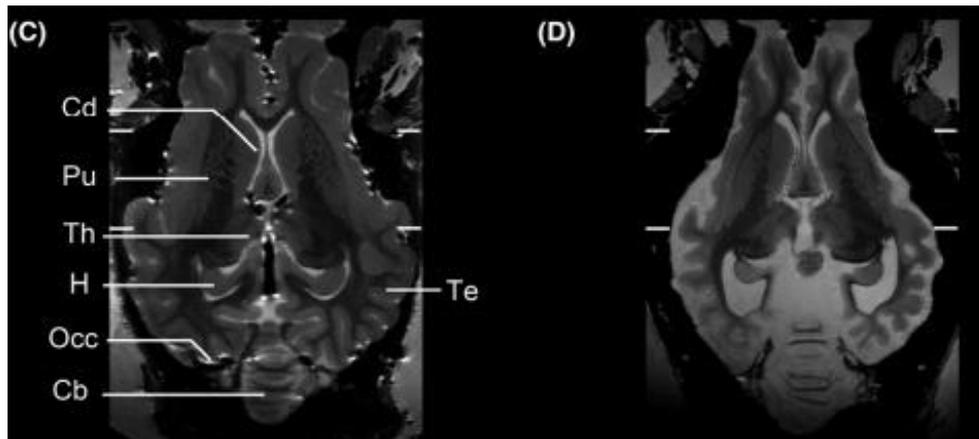


Figure 16. Coupes dorsales d'encéphales d'ovins pondérées en T2. A gauche (C), le contrôle et à droite (D) encéphale d'ovin atteint de CLN de type 5. On remarque l'atrophie corticale marquée et la conservation de l'intégrité du cervelet [51].

L'ensemble des études menées sur le modèle ovin suggère que les mécanismes de la maladie ainsi que les symptômes sont très proches de ceux rencontrés chez les patients humains. En effet, les ovins atteints de CLN présentent des troubles du comportement [53], des troubles moteurs, une perte de la vision [54] et une mortalité précoce vers l'âge de deux ans [55]. En effet, les agneaux malades montrent une augmentation de la marche, une réduction du temps de pâturage et donc une diminution de l'ingestion et enfin, une baisse de la vigilance [56]. Le modèle ovin de CLN6 a permis d'établir des biomarqueurs non invasifs de la progression de la maladie en vue de futurs essais précliniques. Suivre la progression de ces biomarqueurs sur des ovins CLN6 pourrait permettre à l'avenir de contrôler l'efficacité d'essais thérapeutiques avec des méthodes non invasives.

Les ovins affectés par les CLN de type 5 et 6 constituent donc un modèle précieux pour l'étude de la maladie au stade préclinique et clinique mais surtout actuellement pour le développement et la validation de thérapies géniques visant à retarder ou stopper l'évolution de la maladie. Très récemment, l'utilisation de thérapies géniques sur le modèle ovin spontané de CLN5, utilisant une combinaison de vecteurs lentivirus et virus adéno-associé ont montré un certain succès dans le modèle ovin [57], [58]. L'utilisation longitudinale de l'IRM dans le modèle ovin de CNL traité avec ces thérapies géniques a permis d'évaluer *in vivo* la réponse au traitement [57] (Figure 17).

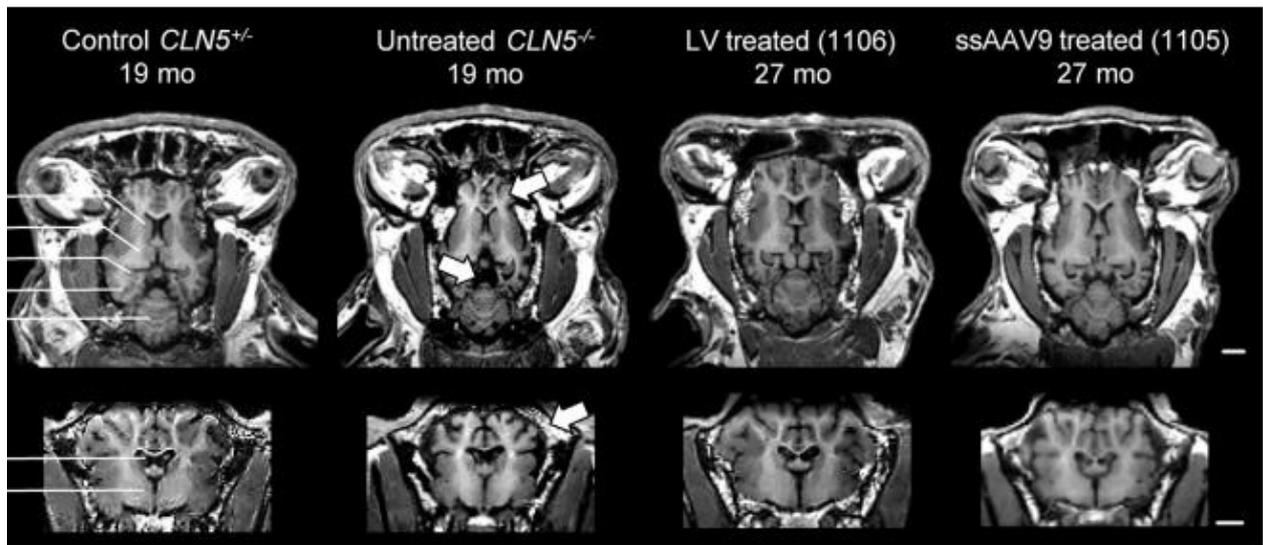


Figure 17. Préservation de la structure neuroanatomique après thérapie génique préclinique dans le cadre de la CLN de type 5. Coupes dorsales et transversales pondérées en T1. En partant de la gauche : ovin âgé de 19 mois sain, ovin âgé de 19 mois atteint de CLN de type 5 non traité, ovins de 27 mois atteints de CLN de type 5 traités par thérapie génique [57].

Ces images IRM montrent une réelle efficacité des thérapies géniques sur l'atrophie puisque la structure cérébrale reste bien préservée chez les individus ayant reçu le traitement. Les ovins traités de cette étude ont du être euthanasiés à 27 mois pour des raisons légales, mais un est resté en vie et était âgé de 57 mois en 2018, ce qui représente près de trois fois l'espérance de vie maximale des ovins atteints de CLN de type 5. Ces résultats sont très encourageants et témoignent de l'importance et de la légitimité du modèle ovin dans la recherche sur ce type de maladie. L'utilisation de l'IRM dans ce type d'étude pourrait également permettre d'identifier, entre autres, d'autres biomarqueurs prédictifs de l'évolution de la réponse au traitement.

Très récemment, des chercheurs ont créé trois moutons homozygotes PPT1 par l'insertion d'une mutation humaine causant la maladie, PPT1. Le but de ce travail est d'engager des recherches sur l'une des formes les plus graves de CLN, la CLN1 qui réduit l'espérance de vie des enfants touchés à environ 9 ans [59].

2.2.1.3 *Gaucher disease*

a. *Définition*

La maladie de Gaucher (GD pour *Gaucher Disease* en anglais) est une maladie génétique rare de surcharge lysosomale comportant trois formes principales (types 1, 2 et 3), une forme fœtale ainsi qu'un variant avec atteinte cardiaque (pseudo-Gaucher). Cette maladie est susceptible de se manifester chez des individus de tous âges [60].

b. *Etiologie*

La GD est due à des mutations du gène *GBA1* qui code une enzyme lysosomale, la glucocérébrosidase, ou exceptionnellement du gène *PSAP* qui code son activateur (saposine C). Le déficit en glucocérébrosidase entraîne l'accumulation de dépôts de glucocérébroside dans les lysosomes des cellules du système réticulo-endothélial (macrophages) du foie, de la rate, de la moelle osseuse, mais également dans d'autres cellules telles que les neurones. On appelle ces cellules « les cellules de Gaucher ». La transmission de la maladie est autosomique récessive.

Les principales caractéristiques de cette maladie sont présentées ci-dessous chez l'Homme, avant d'aborder le modèle ovin.

c. *Symptômes*

Les manifestations cliniques de cette maladie sont extrêmement variables. La GD de type 1 (90% des cas) est chronique et ne présente pas d'atteinte neurologique. Le type 1 peut toucher des patients de 0 à 90 ans. Il associe une organomégalie (rate, foie), une atteinte osseuse (douleurs, ostéonécrose, fracture pathologique) et une cytopénie. Le type 2, aigu et neurologique est la forme la plus rare et la plus sévère de la maladie. Il est caractérisé par une atteinte précoce du tronc cérébral, rapidement évolutive, associée à une organomégalie, et entraînant le décès des patients avant l'âge de 2 ans. Le type 3, est subaigu et présente une atteinte neurologique touchant l'enfant ou l'adolescent. Il est caractérisé par une encéphalopathie progressive (apraxie⁶ oculomotrice, épilepsie, ataxie), s'associant aux manifestations systémiques du type 1. Les mécanismes à l'origine des manifestations neurologiques ne sont actuellement pas encore clairement élucidés [61]. La forme fœtale se manifeste par une diminution des mouvements fœtaux, voire un immobilisme fœtal ou une

⁶ Incapacité d'exécuter des mouvements volontaires adaptés à un but, sans lésion motrice ou sensorielle.

anasarque. Le pseudo-Gaucher présente comme caractéristique principale une calcification progressive de l'aorte et des valves aortiques et/ou mitrales.

Bien que la classification actuelle de la GD décrive le type 1 comme sans atteinte neurologique, des études ont montré que la mutation du gène GBA1 à l'origine de GD est un facteur de risque du développement de la maladie de Parkinson [62], [63]. De plus, la présence de troubles neurologiques a été constatée chez des patients atteints de GD de type 1 [64].

d. Lésions

Chez un patient atteint de GD, les cellules de Gaucher dans le foie, la rate, les ganglions, la moelle osseuse ont une apparence de papier froissé à l'histologie (Figure 18). Ces lésions sont pathognomoniques de la maladie.

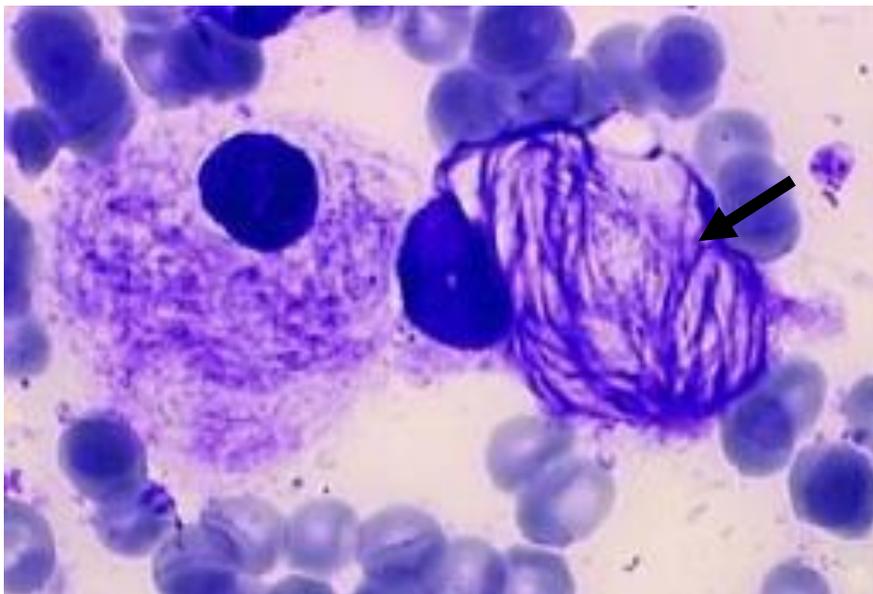


Figure 18. Cellules de Gaucher : les macrophages de Gaucher présentent un cytoplasme contenant un matériel tubulaire disposé en lamelles épaisses parallèles ou en fines fibrilles, refoulant contre la membrane un petit noyau (flèche noire) [65].

e. Diagnostic

Le diagnostic de certitude de la maladie est établi par le dosage de la glucocérébrosidase dans les leucocytes circulants. Le génotypage permet de confirmer le diagnostic.

f. Traitement

Actuellement, seuls deux traitements sont disponibles pour les GD de type 1 et 3; le traitement enzymatique de substitution et le traitement par réduction de substrat. Le pronostic est bon pour le type 1 mais pour le type 2, même avec un traitement, le décès survient après quelques années. Ces traitements sont inefficaces dans la GD de type 2.

g. Le modèle ovin

Depuis une quarantaine d'années, les scientifiques essaient de trouver le modèle animal le plus adapté possible pour étudier la GD. Le modèle murin a été très utilisé jusqu'à présent et a permis de comprendre certains mécanismes de la maladie et d'étudier certains traitements, mais ce modèle a montré certaines limites. En effet, la mortalité périnatale et les différences entre les phénotypes humains et murins des différentes mutations ont limité la pertinence des études menées [66]. Ainsi, malgré des progrès permanents, le modèle murin idéal de GD fait toujours défaut. Dans ce contexte, des recherches ont été engagées sur d'autres modèles animaux ayant plus de similitudes avec l'Homme quant à la GD et à l'espérance de vie puisqu'elle est un facteur indispensable à l'étude de potentielles thérapies.

Un troupeau de Mouton de race Southdown atteint de GD a été découvert en 2010 à Victoria, en Australie. Depuis plusieurs années, dans cet élevage, des agneaux naissent avec une peau anormale et épaissie et présentaient des troubles neurologiques graves caractérisés principalement par des tremblements et une incapacité à rester debout et une mort à quelques jours de vie [67].

Un génotypage a été réalisé sur ces agneaux et a permis l'identification de deux mutations dont l'une a été également retrouvée chez l'Homme atteint de GD. Plus récemment, une étude menée sur ces agneaux nouveau-nés atteints de GD, a montré une réduction systématique de 1 à 5% de l'activité de la glucocérébrosidase dans certaines régions cérébrales. Une analyse précise des profils en glycosphingolipides dans certaines régions du cerveau a également été réalisée et a montré des dérégulations significatives du métabolisme lipidique [68]. Ces glycosphingolipides sont impliqués dans de nombreux événements cellulaires. Par conséquent, un déséquilibre ou une perturbation de l'homéostasie lipidique de la membrane cellulaire pourrait être responsable d'une altération de la fonction neuronale et donc contribuer au processus neurodégénératif.

Actuellement, les ovins sont le modèle de GD le plus proche de la maladie humaine sur un plan physiologique et pathologique et sont ainsi un modèle pertinent pour l'étude de la maladie et le contrôle de l'efficacité de potentielles nouvelles thérapies. De plus, la mutation de GBA1 étant considérée comme un facteur de risque élevé de la maladie de Parkinson chez l'Homme, le modèle ovin représente un potentiel considérable pour l'étude des mécanismes encore non élucidés de cette maladie.

La neuroimagerie sur le modèle ovin en lien avec la GD n'a pas encore été utilisée, mais l'atteinte neurologique parfois sévère mènera certainement à l'utilisation de l'IRM pour la recherche de lésions cérébrales.

2.2.2 Modèle ovin transgénique de maladies neurologiques humaines : étude de la maladie de Huntington

2.2.2.1 Définition

La Maladie de Huntington (MH) est une maladie héréditaire rare et incurable associée à la dégénérescence de neurones et à l'atrophie de structures du cerveau impliqués dans des fonctions motrices, cognitives et comportementales [69]. Les principales caractéristiques de cette maladie sont présentées ci-dessous chez l'Homme, avant d'aborder le modèle ovin.

2.2.2.2 Etiologie

La MH est due à une mutation du gène *HTT* codant pour la protéine nommée huntingtine. Cette mutation génétique correspond à une anomalie du nombre de répétitions d'un triplet de nucléotides (CAG) à l'extrémité du gène *HTT*. Plus l'extension est importante et plus le début de la maladie est précoce. Un individu non atteint compte 35 copies de ce triplet. La MH se transmet sur le mode autosomique dominant. Ce qui signifie que les hommes et les femmes peuvent être atteints et que tout individu porteur de la mutation développera systématiquement la maladie.

2.2.2.3 Symptômes

La maladie débute habituellement entre 30 et 50 ans, mais dans de rares cas, elle peut apparaître avant 20 ans et jusqu'à l'âge de 80 ans.

Les symptômes de la maladie de Huntington associent généralement des troubles moteurs, cognitifs et psychiatriques mais le type de manifestations et leur intensité peuvent être très variables d'un individu à l'autre.

Les troubles moteurs :

Le symptôme le plus visible de cette maladie est la chorée. La chorée est un syndrome qui se manifeste par des mouvements brusques et involontaires s'étendant progressivement à tous les muscles. Environ 90% des patients présentent ces symptômes. Ceux-ci peuvent être exacerbés par le stress, les émotions ou encore la concentration. En général, ce syndrome disparaît pendant le sommeil.

Les individus atteints peuvent également présenter des postures anormales (dystonie), une rigidité musculaire ou encore des mouvements volontaires lents (bradykinésie). Ces symptômes engendrent, entre autres, des troubles de la mastication, de la déglutition, de l'équilibre et des déformations articulaires. La maladie est évolutive, les fonctions motrices se détériorent donc progressivement jusqu'à l'impossibilité d'effectuer certains mouvements, de se déplacer seul, de se nourrir ou même de communiquer.

Les troubles cognitifs :

Les fonctions cognitives vont décliner progressivement jusqu'au stade de démence. Les premiers signes sont en général l'expression de l'atteinte des fonctions exécutives permettant de réaliser des tâches complexes au quotidien (mémoire de travail, attention, planification...). D'autres troubles peuvent également apparaître : troubles du langage, de la perception ou de l'intégration visuelle, de la mémoire... Il existe aussi un ralentissement du traitement cognitif de l'information qui se manifeste par un allongement du temps de réaction.

Les troubles psychiatriques :

Souvent, les troubles psychiatriques et comportementaux précèdent les troubles moteurs. Le symptôme rencontré le plus fréquemment est la dépression, ce qui engendre un risque suicidaire élevé chez individus atteints de MH. Parfois, on peut observer des états psychotiques avec des délires, des hallucinations ou encore des obsessions. D'autres signes, fréquents et invalidants existent également : une perte de poids sans réduction de l'apport calorique, des troubles du sommeil et une perte du rythme circadien.

Une modification (diminution) des profils plasmatiques en certains acides aminés (leucine, valine, isoleucine) a été démontrée également chez les patients atteints de MH [70].

2.2.2.4 Lésions

Chez les patients atteints de MH, on retrouve une agrégation de la protéine HTT anormale dans les cellules neuronales associée à une atrophie préférentielle de certaines zones telles que le cortex et le striatum [69] (Figure 19).

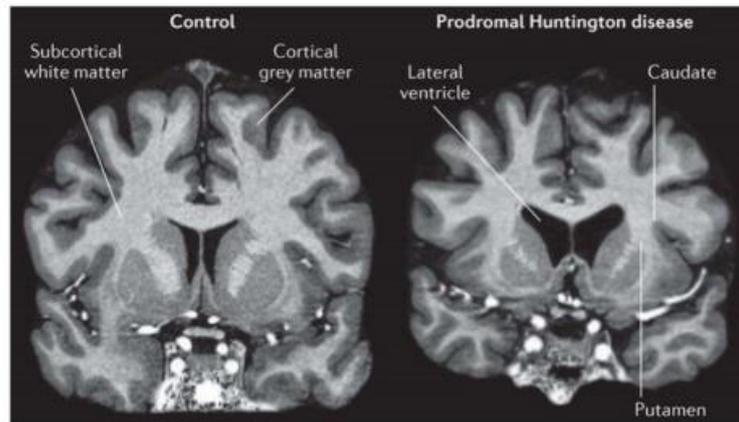


Figure 19. Mesure de l'atrophie cérébrale dans la maladie de Huntington par IRM. Patient sain à gauche et patient atteint de MH à droite [71]

2.2.2.5 Diagnostic

Le diagnostic de suspicion de la maladie de Huntington repose sur la constatation d'une symptomatologie typique associée à des antécédents familiaux. La confirmation se fait grâce à des tests génétiques qui permettent de mettre en évidence le nombre de répétition CAG. La neuroimagerie peut également être utilisée, comme nous l'avons vu précédemment, car elle permet d'identifier l'atrophie caudée souvent associée à une atrophie prédominante du cortex frontal.

2.2.2.6 Traitement

Il n'existe actuellement aucun traitement préventif ou curatif permettant de lutter contre cette maladie. Seuls des traitements de soutien peuvent être mis en place associés à une information aux familles touchées puisque la maladie est héréditaire.

A ce jour, si l'origine génétique de la MH est parfaitement élucidée, son évolution, son développement au niveau cellulaire ainsi que son impact sur le métabolisme menant à une dégénérescence neuronale ne sont pas encore totalement établis. La mise au point de thérapies efficaces modifiant la maladie nécessite donc une meilleure compréhension du processus

pathogénique moléculaire primaire. L'identification de biomarqueurs permettant de suivre la progression de la maladie est également un élément essentiel pour la réalisation de tests thérapeutiques. C'est dans ce contexte que le recours au modèle ovin devient une solution pertinente pour essayer d'élucider ces mécanismes encore mal compris et ainsi tendre vers la mise en place de thérapies géniques efficaces.

2.2.2.7 Le modèle ovin

Des ovins transgéniques atteints de la maladie de Huntington ont été créés pour la première fois en 2006 par une équipe de l'Université d'Auckland, en Nouvelle-Zélande, en collaboration avec une équipe australienne (cette souche est d'ailleurs la seule existant encore à ce jour). Ces chercheurs ont réussi à élever une souche de mouton mérinos (OVT73) portant la mutation génétique humaine à l'origine de la maladie de Huntington. Ce modèle mouton transgénique de la MH ainsi créé porte le gène de la huntingtine humaine (HTT) avec une répétition de 73 CAG, ce qui représente le nombre de répétitions de CAG qui causerait typiquement la MH juvénile [26].

Auparavant, les modèles animaux utilisés pour la MH étaient principalement des rats ou des souris. Mais le modèle ovin est particulièrement intéressant puisque les symptômes de la MH apparaissent rarement avant l'âge adulte et que les ovins ont une espérance de vie de 10 à 12 ans ce qui offre l'opportunité de réaliser des études à beaucoup plus long terme [72]. A l'heure actuelle, les ovins représentent principalement un modèle pré-symptomatique de la maladie, puisqu'aucun des moutons transgéniques n'a présenté jusqu'à lors de symptômes évidents caractéristiques de la maladie jusqu'à l'âge de huit ans (âge du plus vieux mouton OVT73).

Malgré tout, des études utilisant le modèle ovin OVT73 ont permis de montrer une modification pré-symptomatique significative des profils métaboliques (acides aminés et dérivés, acides gras et acides organiques) du tissu cérébral (cervelet) et hépatiques, montrant ainsi l'importance de considérer la MH comme une maladie ayant un impact systémique et non uniquement neurologique [73]. La preuve d'un dysfonctionnement systémique ouvre également la porte à des traitements ciblant des tissus périphériques et non uniquement le cerveau.

D'autres études très récentes sont encore en cours de réalisation mais des premiers résultats ont déjà été publiés et renforcent certaines théories. En effet, les ovins atteints de MH expriment une modification du rythme circadien (seul symptôme clinique identifié jusqu'à

présent sur les moutons), caractérisée par une persistance anormale de l'activité à la tombée de la nuit et une augmentation de l'activité nocturne. En effet, les troupeaux OVT73 présentent une période d'activité significativement plus longue, l'acrophase⁷ était nettement plus tard dans la journée et leur taux d'activité jour-nuit est significativement plus bas [26]. Ces résultats étayaient la théorie selon laquelle la perturbation du rythme circadien est un symptôme précoce de la MH, mais laisse également penser qu'une telle perturbation pourrait jouer un rôle important dans la pathologie de la maladie [21], [26].

Le Mouton en tant que modèle transgénique apporte donc également de nombreuses découvertes intéressantes à la recherche en lien avec les maladies neurodégénératives. Bien que des études soient encore en cours, les premiers résultats sont encourageants et permettent de confirmer que les ovins ont toute leur place comme modèle de la maladie de Huntington pour la recherche de biomarqueurs pertinents en vue du développement de traitements thérapeutiques.

Nous avons vu jusqu'à présent que le modèle ovin de maladies humaines pouvait être naturel ou transgénique, mais depuis longtemps, les Moutons sont aussi un modèle précieux pour une maladie humaine d'origine infectieuse : les Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST).

2.2.3 Modèle ovin de maladies neurologiques humaines d'origine infectieuse : étude des Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST)

2.2.3.1 Les ESST : généralités

a. Définition

Les ESST, quelles soient humaines ou animales, ont un certain nombre de caractéristiques communes. En effet, ce sont toutes des maladies rares, caractérisées par une dégénérescence du système nerveux central et par la formation d'agrégats d'une protéine spécifique. Elles sont dues, selon une hypothèse aujourd'hui unanimement reconnue par la communauté scientifique pour expliquer la pathogénie de ces maladies, à l'accumulation dans le cerveau d'une protéine mal conformée, la protéine prion⁸. Sur le plan histologique, les ESST induisent toutes le même type de lésions caractéristiques constituées d'une spongiose (développement de vacuoles dans le tissu cérébral ce qui lui donne un aspect d'éponge), d'une perte neuronale

⁷ En physiologie, position sur l'axe du temps du maximum de variation dans un rythme biologique temporel.

⁸ Le mot prion est issu de l'acronyme anglais Proteinaceous infectious particle.

(perte des corps cellulaires en association avec la spongiose) et d'une gliose souvent associée à une hyperastrocytose. Des plaques amyloïdes sont également observées mais de manière inconstante [74]. Ces maladies sont caractérisées par une évolution plus ou moins rapide, inéluctablement fatale et par l'absence de traitement. Aucune ESST ne provoque de réaction immunitaire chez l'individu atteint.

Les ESST humaines comprennent la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), qui représente 85% des diagnostics de maladies humaines à prions [75], le syndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS), l'insomnie fatale familiale et le Kuru. Il existe plusieurs formes de la MCJ : la MCJ sporadique (sMCJ, sans cause connue); la MCJ familiale (fMCJ, héréditaire); la MCJ iatrogène (iMCJ, associée à un traitement, une transfusion ou une greffe) et la variante de la MCJ (vMCJ, associée à l'exposition à l'agent de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB)). Bien qu'il existe donc trois formes bien distinctes de la maladie, la forme sporadique est de loin la plus fréquente [76]. Chez les animaux, plusieurs espèces peuvent être atteintes d'ESST. Il s'agit des bovins (ESB), des ovins et des caprins (tremblante des petits ruminants), des félins (encéphalopathie spongiforme féline), des visons (encéphalopathie spongiforme du vison) et enfin des cervidés (maladie du dépérissement chronique). Qu'elles soient spontanées, génétiques ou acquises, les ESST ont toutes le potentiel d'être transmissibles.

La tremblante des petits ruminants a été décrite pour la première fois au XVIIIème siècle et c'est d'ailleurs historiquement la première ESST pour laquelle le caractère transmissible chez les animaux a pu être établi en 1936 [77]. Cette maladie a donc fait l'objet d'un grand nombre de recherches et constitue à ce titre un modèle d'étude pour les autres ESST notamment la MCJ.

Dans cette partie, nous n'étudierons donc que la tremblante ovine en réalisant une mise en parallèle avec la MCJ afin de montrer les avancées actuelles et futures permises par le modèle ovine.

b. Etiologie : le prion

Le prion est ce que l'on appelle un Agent Transmissible Non Conventionnel (ANTC). Il est nommé ainsi car il possède des propriétés inhabituelles de résistance aux procédés classiques de désinfection et de stérilisation [78].

La protéine prion (PrPc) est une protéine cellulaire physiologique qu'on retrouve de façon très conservée chez de nombreuses espèces. Son rôle est encore mal connu mais la

protéine est présente dans la plupart des compartiments de l'organisme et pourrait assurer de multiples fonctions cellulaires. Dans les neurones du cerveau, la protéine prion peut devenir pathogène en changeant sa conformation tridimensionnelle : elle se replie sur elle-même de façon très serrée, ce qui la rend hydrophobe, peu soluble et résistante à la dégradation [76]. On l'appelle alors protéine prion "scrapie"⁹ (PrP^{sc}). La seule différence actuellement identifiée entre la PrP^c et la PrP^{sc} réside dans sa conformation et sa structure qui présentent de nombreux feuillets β plutôt que des hélices α (Figure 2).

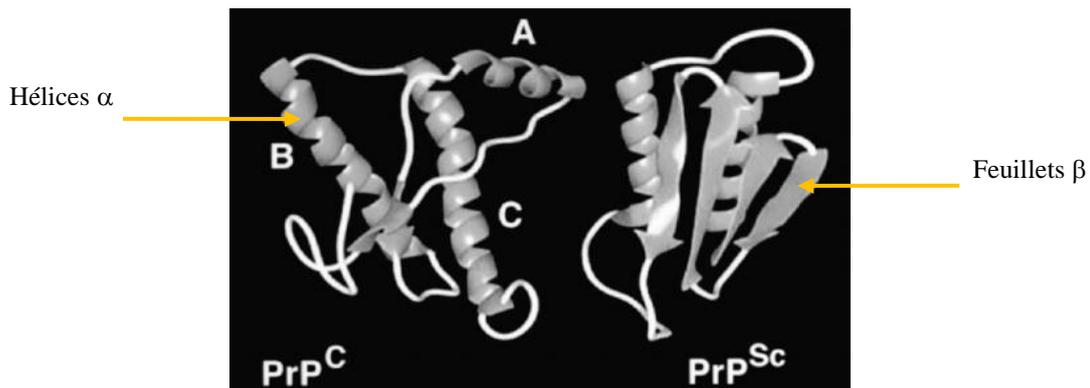


Figure 20. Modèles de conformation de la PrP^c et de la PrP^{sc} [79].

Tableau 3. Pourcentage d'hélice α et de feuillet β de la PrP^c et de la PrP^{sc} [80].

| Protéine | % d'hélices α | % de feuillets β |
|-------------------|----------------------|------------------------|
| PrP ^c | 42 | 3-5 |
| PrP ^{sc} | 30 | 43 |

La tremblante, comme la forme sporadique de la MCJ, peut être causée par différentes souches de prion [81], [82], [83]. Ces souches se distinguent par la durée du temps d'incubation, la localisation intra-cérébrale de PrP^{sc} et des lésions associées, et la signature biochimique de PrP^{sc} obtenue après digestion protéolytique et analyse Western-blot de la fraction résistante.

2.2.3.2 La tremblante des petits ruminants

a. Formes de tremblante

Il existe deux formes de tremblante : une forme qualifiée de « classique » et une forme « atypique », les premiers cas de cette dernière ont commencé à être détectés il y a vingt ans [84]. Ces deux formes de tremblante se distinguent par leur présentation clinique, les

⁹ Vient de l'anglais « to scrape » gratter.

caractéristiques moléculaires et la distribution de la PrP^{Sc} au sein des Moutons infectés, par la sensibilité génotypique ainsi que par leurs caractéristiques épidémiologiques.

La tremblante, qualifiée de «classique» depuis la découverte de la tremblante atypique, regroupe de multiples souches distinctes. Celles-ci peuvent être différenciées par les techniques biochimiques (recherche de la PrP^{Sc} et analyses de ses propriétés) ou par inoculation à l'animal de laboratoire (temps d'incubation différent, variations de la répartition des lésions au sein même du système nerveux central).

- La tremblante atypique

Identifiée en 1998 en Norvège chez les ovins et caprins, elle est maintenant décrite dans de nombreux pays depuis la mise en place des programmes de surveillance active. Les propriétés biochimiques de la protéine anormale associée à cette maladie semblent identiques chez tous les animaux détectés sur le terrain et bien distinctes de celles mises en évidence avec les souches de tremblante classique.

- b. Epidémiologie*

La tremblante est une maladie présente dans quasiment toutes les régions du monde. Il existe, dans l'espèce ovine, une prédisposition génétique qui conditionne largement le développement de la maladie. Les moutons possèdent cinq variants alléliques du gène *PrnP*, codant PrP^c, désignés selon les lettres correspondant aux acides aminés dont la synthèse est déterminée par les codons 136, 154 et 171 : l'alanine (A), la valine (V), l'arginine (R), l'histidine (H) et la glutamine (Q). Ces cinq variants alléliques sont ARQ, VRQ, AHQ, ARR et ARH. En ce qui concerne la forme classique, l'allèle ARR confère une résistance à la maladie, les homozygotes ARR/ARR sont donc résistants à la tremblante et sont censés ne pas pouvoir disséminer la maladie (absence de portage). Les hétérozygotes ARR (notamment les ARR/AHQ) sont, quant à eux, très rarement atteints mais la résistance n'est pas absolue. L'allèle AHQ confère une résistance partielle. Enfin, l'allèle ARQ est un allèle de sensibilité et l'allèle VRQ est un allèle de grande sensibilité. Ainsi, les homozygotes VRQ/VRQ sont extrêmement sensibles et développent la maladie très précocement en milieu infecté [85]. Par contre, ce sont les animaux possédant un allèle AHQ qui semblent préférentiellement affectés lors de forme atypique de tremblante (Figure 21).

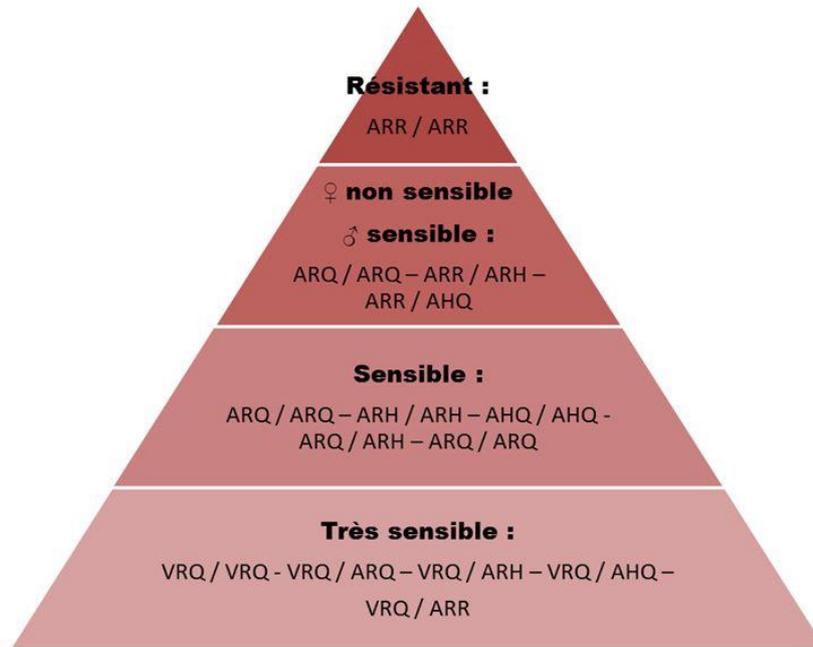


Figure 21. Sensibilité vis-à-vis de la forme classique de tremblante selon le génotype [86].

Le mode de transmission de la tremblante classique n'est pas encore totalement élucidé et des études sont encore en cours à ce sujet. Malgré tout, de nombreuses études montrent que le mode principal de transmission est indirect et horizontal. Ainsi la contamination se fait par voie orale dans un milieu extérieur contaminé [87], [88], [89], [90], [91]. Il est également établi qu'il existe une transmission directe horizontale en particulier lors des mises-bas, le placenta étant une source majeure, et verticale (*in utero* ou pendant la mise bas). La possibilité d'une contamination des agneaux nourris avec du lait ou du colostrum de brebis infectées a été démontrée [92]. L'existence d'une contamination par le sperme ou par le transfert d'embryons issus de mères infectées est à ce jour largement suspectée [93]. Enfin, le modèle ovin s'est avéré essentiel dans l'évaluation de la transmission iatrogène sanguine de la maladie en utilisant des études de transfusion qui auraient été physiquement impossibles à réaliser sur modèle rongeur [94]. Par l'utilisation de ce modèle, les responsables de la santé publique ont pu être alertés sur l'existence d'un risque de transmission iatrogène des ESST lors de transfusion de sang ou de plasma provenant d'un donneur apparemment en bonne santé.

La tremblante atypique quant à elle semble se développer de façon spontanée et n'être que très peu voire pas contagieuse dans des conditions naturelles [95].

c. Symptômes

L'incubation de la tremblante est longue et peut varier de 7 mois à plus de 5 ans selon la souche.

Deux formes cliniques de la tremblante classique sont distinguées, l'une prurigineuse et l'autre paralytique. Néanmoins, les deux formes peuvent coexister sur un même animal.

- Forme prurigineuse : Elle débute par un prurit dorso-lombaire qui s'étend ensuite au reste du corps. La laine devient par la suite rêche, ébouriffée et s'arrache par plaques. Ces plaques dépilées sont souvent ensuite le siège de surinfections (Figure 22).



Figure 22. Prurit dorso-lombaire chez une brebis atteinte de tremblante classique.

- Forme paralytique : Elle débute par une parésie de l'arrière-train associée à des difficultés de locomotion ainsi que des pertes de coordination.

Quelle que soit la forme observée, elle est associée, dès le début d'évolution de la maladie, à des troubles du comportement (attitude craintive, fuite...) ainsi qu'à une hyperesthésie qui se manifeste par des tremblements à la moindre stimulation. Ces tremblements sont dans un premier temps localisés aux oreilles, puis s'étendent à la tête, l'encolure et enfin aux membres.

L'appétit est conservé, mais l'état général de l'animal se dégrade progressivement et on observe un amaigrissement important. La maladie est évolutive et les troubles neurologiques s'intensifient inexorablement; les tremblements deviennent permanents et l'animal reste en décubitus permanent et présente un état comateux entrecoupé de convulsions.

Après une évolution de 1 à 2 mois en moyenne (15 jours à 6 mois selon la souche), la tremblante aboutit systématiquement à la mort sans aucune phase de rémission. Il est important de noter que durant toute l'évolution de la maladie, l'animal ne présentera jamais d'hyperthermie.

Pour la forme atypique, l'ataxie progressive semble être le symptôme prédominant [96]. En réalité, la majorité des cas sont détectés lors du dépistage diagnostique de routine des animaux de réforme (surveillance active) sur des animaux n'ayant pas présenté de troubles neurologiques [97].

d. Localisation des lésions microscopiques cérébrales

La localisation des lésions microscopiques cérébrales diffère entre les deux formes de tremblante. Dans le cas de la tremblante classique, les lésions siègent préférentiellement dans le tronc cérébral, notamment la moelle allongée au niveau de l'obex dans laquelle sont situés le noyau moteur dorsal du nerf vague, le noyau cunéiforme latéral, le noyau du tractus spinal du nerf trijumeau, le noyau olive et les noyaux de la formation réticulaire. Dans la forme atypique, la spongiose est de faible intensité et touche plus particulièrement le cervelet et le cortex cérébral [84].

e. Diagnostic

Le diagnostic de la tremblante est tout d'abord épidémiologique-clinique. La confirmation du diagnostic ne peut se faire que *post-mortem* par examen histopathologique et immunohistochimique du tissu cérébral et Western-blot; en cas de suspicion, les prélèvements sont règlementés. Des tissus nerveux sont prélevés (encéphale, obex et cervelet) afin de réaliser des épreuves immuno-enzymatiques et des analyses histopathologiques.

2.2.3.3 La maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ)

Les différentes plusieurs formes de la MCJ ont été évoquées précédemment, il s'agit de la MCJ sporadique (sMCJ, sans cause connue); la MCJ familiale (fMCJ, héréditaire); la MCJ iatrogène (iMCJ, associée à un traitement, une transfusion ou une greffe) et la variante de la MCJ (vMCJ, associée à l'exposition à l'agent de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB)).

Chez les patients atteints de sMCJ, une certaine susceptibilité génétique, similaire à celle des moutons pour la forme classique de la tremblante, a été identifiée : le polymorphisme du codon 129 du gène codant la protéine PrP. Il peut coder soit une méthionine (met) soit une valine (val). Dans la population générale, il existe 41% de met/met, 10 % de val/val, et 49% de met/val. Dans la MCJ sporadique, il existe 72% de met/met, 17% de val/val, 11% de met/val. Donc, un individu homozygote et surtout met/met au codon 129 est un individu présentant un facteur de risque de sMCJ [98].

Tout comme chez les ovins, la durée d'incubation de la MCJ ainsi que la durée d'évolution diffèrent selon le variant en cause. Les symptômes également, mais se rapprochent le plus souvent de ceux rencontrés dans la forme sporadique de la MCJ :

- Dégradation intellectuelle rapide :
 - o Trouble de la mémoire, du langage (aphasie), des gestes (apraxie),
 - o Désintérêt, manque d'initiative, isolement social.
- Secousses musculaires soudaines (appelées « myoclonies »),
- Troubles de l'équilibre, coordination des mouvements difficile, troubles moteurs,
- Troubles de la vision (vue brouillée, hallucinations, cécité),
- Raideur des membres

La localisation des lésions microscopiques cérébrales diffère de celle associée aux cas de tremblante classique. Les structures atteintes sont le néocortex, le striatum, le thalamus et le cortex limbique. Le pattern d'atteinte de ces structures varie selon la forme de MCJ. Par exemple, lors de sMCJ, le néocortex et le striatum sont plus fréquemment atteints que le thalamus alors que c'est l'inverse pour les patients atteints de vMCJ [99], [100].

Chez l'Homme comme chez le Mouton, le diagnostic *ante-mortem* ne peut être actuellement que de suspicion. Il se fonde sur l'association de symptômes évocateurs, d'un électroencéphalogramme ((EEG), sauf pour la vMCJ), d'imagerie cérébrale (IRM pour les formes sMCJ et vMCJ, notamment IRM de diffusion, cf. *infra*), de recherche de marqueurs dans le LCS ou le sang selon le variant.

2.2.3.4 Intérêt de l'IRM de diffusion dans l'étude des ESST

a. Chez l'Homme

L'IRM de diffusion est une modalité essentielle dans le diagnostic différentiel des syndromes démentiels à progression rapide chez l'Homme; elle permet d'identifier les patients probablement atteints d'ESST avec une meilleure sensibilité que l'électroencéphalogramme (sensibilité de 83% et spécificité de 87% pour la sMCJ [101]). Elle présente également l'intérêt de rester la plupart du temps interprétable, contrairement aux séquences morphologiques classiques souvent impactées par des artefacts causés par les mouvements des patients [102]. Une restriction de diffusion au sein de structures de substance grise spécifiques, révélée par l'analyse des images pondérées en diffusion et des cartes paramétriques issues de la DTI (cartes de MD et FA), est caractéristique des maladies à prions [100], [103]. Les modifications de la substance grise objectivées en IRM de diffusion seraient dues à la présence de vacuoles intracellulaires qui entraînent une hypertrophie du péricaryon¹⁰ et des neurites¹¹ et conduisent ainsi à une restriction du mouvement des molécules d'eau dans le compartiment extracellulaire, mais également à la gliose et au dépôt de protéine prion [104].

Les paramètres issus de la DTI seraient également capables de déceler des modifications fonctionnelles au sein de la substance blanche (altérations du transport axonal) chez des individus atteints d'ESST [103].

b. Pour le modèle ovin

Les mécanismes pathogéniques qui déterminent la propagation des différentes souches de prions au sein de l'encéphale ne sont pas encore clairement élucidés. Dans ce contexte, l'utilisation de l'IRM dans le modèle ovin infecté expérimentalement avec différentes souches de prions et étudié à différents temps d'évolution de la phase clinique apparaît comme une stratégie intéressante. Non seulement l'IRM permettrait l'examen non invasif d'un même animal au cours du temps, mais il est aussi probable que les séquences pondérées en diffusion soient capables de mettre en évidence chez l'animal les zones cérébrales spécifiquement atteintes. Les différents paramètres issus de l'imagerie du tenseur de diffusion apparaissent donc comme de potentiels outils d'intérêt pour étudier la propagation de la protéine prion

¹⁰ Corps cellulaire d'un neurone.

¹¹ Prolongement du corps cellulaire d'un neurone.

anormale dans le modèle ovin expérimentalement infecté par différentes souches de prions responsables de la tremblante.

L'IRM représente donc un outil d'intérêt majeur pour la recherche préclinique dans l'ensemble des maladies neurodégénératives que nous venons d'étudier. Mais l'utilisation d'une telle technologie sur des modèles ovins *in* ou *ex-vivo* nécessite la prise en compte de certaines caractéristiques pour le bon déroulement des acquisitions et la pertinence des résultats obtenus.

2.3 Examen IRM de l'encéphale d'ovins

Le modèle ovin en neurosciences étant actuellement en plein essor, un template¹² T1 et T2 associé à un atlas stéréotaxique¹³ *in vivo* ont été réalisés récemment [105], [106]. A notre connaissance, une seule étude de faisabilité de la DTI sur le modèle ovin a été réalisée. Cette étude, basée sur un échantillon de six brebis, a établi des valeurs de FA pour des ROIs (genou et splenium du corps calleux, capsule interne et corona radiata) ainsi que la tractographie du tractus corticospinal et des radiations optiques [107].

La DTI a ensuite été très récemment utilisée sur des modèles ovins (agneaux) dans une étude dont le but était de montrer que ce type d'imagerie était un outil pertinent dans la détection des lésions neurologiques induites par la ventilation mécanique sur des prématurés [108]. Dans cette étude, la FA et la MD ont été calculées pour le thalamus, la substance blanche périventriculaire, la capsule interne, la substance blanche frontale et le vermis du cervelet. Les résultats ont mis en évidence, grâce au modèle ovin, l'intérêt de la DTI pour la recherche de lésions cérébrales subtiles chez les enfants prématurés.

2.3.1 Examen IRM *in vivo*

Dans la grande majorité des cas, les scanners IRM utilisés pour les modèles animaux le sont aussi pour la recherche clinique humaine. Ainsi certaines règles de base sont à respecter pour des raisons sanitaires évidentes.

2.3.1.1 Recommandations d'utilisation d'un scanner IRM clinique

Les animaux sont susceptibles d'être vecteurs de maladies potentiellement transmissibles à l'Homme (zoonoses), mais ils véhiculent aussi des odeurs pouvant être désagréables pour

¹² Un template désigne un modèle fournissant un système de coordonnées spatiales commun sur lequel se baser; en imagerie médicale, il peut être considéré comme une image synthétique qui présente la moyenne d'une population d'intérêt.

¹³ La stéréotaxie est une technique utilisée en neurochirurgie pour atteindre des zones du cerveau de manière précise. Elle permet de définir la position d'une structure grâce à un système de coordonnées dans l'espace.

les patients. Afin de s'affranchir des contraintes liées à l'utilisation d'un scanner clinique, certaines recommandations sont à suivre :

- Réaliser les acquisitions sur les animaux pendant des jours qui leurs sont réservés ou attendre la fin de journée lorsque tous les patients sont passés.
- Nettoyer (dans la mesure du possible) les animaux avant leur passage.
- Envelopper les animaux (une fois anesthésiés) dans une couverture et des protections plastifiées.
- Un cathéter vésical peut être mis en place pour les acquisitions longues afin de prévenir toute contamination urinaire. Si la mise en place du cathéter n'est pas possible, il est possible d'utiliser des couches [109].
- Des procédures de nettoyage et désinfections doivent être élaborées et validées par le service compétent de l'hôpital et un vétérinaire. Ces procédures doivent être affichées et scrupuleusement appliquées.

2.3.1.2 Protocoles d'anesthésie

L'anesthésie est un acte délicat et potentiellement risqué et il l'est d'autant plus chez les ruminants. Ainsi, quel que soit le protocole d'anesthésie utilisé, les ovins doivent être mis à jeun au moins 12 heures avant l'anesthésie afin de prévenir tout risque de météorisation [110].

De nombreux protocoles anesthésiques existent et peuvent être utilisés sur des ovins. Les protocoles proposés ici sont applicables sur des ovins adultes d'environ 70 kg et pour des anesthésies relativement longues.

Exemple de protocole classique :

Une prémédication peut être réalisée avec du Diazepam ou avec une association de Midazolam et de Kétamine. Ensuite, l'anesthésie peut être induite au Propofol puis maintenue soit par voie veineuse avec du Propofol soit par voie respiratoire avec de l'Isoflurane [111].

Exemple de protocole pour la réalisation d'IRM fonctionnelle ou de diffusion :

L'anesthésie peut être induite avec du Télazol® (association de Tilétamine et de Zolazépam) à une dose initiale de 2 à 4 mg/kg par voie intraveineuse, puis ajout de doses supplémentaires si nécessaire. Ici, l'utilisation d'anesthésiques par inhalation pour le maintien de l'anesthésie, comme l'isoflurane, n'est pas recommandée en raison de ses effets sur la modification de l'hémodynamie (vasodilatation entre autre) et peut donc biaiser les résultats obtenus.

Quel que soit le protocole anesthésique utilisé, les Moutons doivent être placés si possible sur le côté gauche et légèrement inclinés vers le bas, ce qui permet l'évacuation des gaz produits dans le rumen [112]. L'atropine doit être évitée ou seulement donnée en petites doses, car elle rend les sécrétions salivaires et bronchiques plus visqueuses et plus difficiles à éliminer [110].

2.3.2 Réalisation d'IRM *ex vivo* : influence de la mort et de la conservation au formol sur les acquisitions

Dans notre étude, les acquisitions IRM ont été réalisées *ex vivo* sur des têtes de moutons conservées dans une solution de formol. L'IRM *ex vivo* des tissus offre plusieurs avantages par rapport à la l'IRM *in vivo*. En effet, il n'y a pas de risque d'artefact dû aux mouvements de l'animal (problème d'anesthésie) ou physiologiques (cardiaque, respiratoire, pulsatile, etc.) et aucune restriction temporelle pour l'acquisition des données. Ainsi il est possible d'acquérir des images avec une haute résolution spatiale et un meilleur rapport signal sur bruit [113], [114], [115] et d'utiliser les techniques d'IRM les plus avancées comme la DTI par exemple. L'IRM *ex vivo* permet également la réalisation de coupes histologiques juste après l'examen ou d'autres tests non réalisables sur des modèles vivants.

La réalisation d'examens *post-mortem* implique cependant l'utilisation de produits de fixation (formaldéhyde principalement). L'immersion des tissus dans une solution de conservation a pour objectif de les maintenir dans un état similaire à celui retrouvé *in vivo*. Mais le formol ne pénètre pas immédiatement l'intégralité des tissus, il se diffuse progressivement vers les tissus les plus profonds. Ainsi jusqu'à la fixation complète, les tissus restent tout de même vulnérables à la dégradation bactérienne et à l'autolyse [116]. De plus, la fixation au formaldéhyde est connue pour avoir une influence sur les paramètres de l'IRM [115].

Ainsi, la mort, le temps et le type de conservation, sont susceptibles d'avoir une influence sur les images obtenues par IRM. La température du milieu lors des acquisitions a également été rapportée comme un élément susceptible d'influencer les paramètres IRM [117], [118]. Il est donc nécessaire d'étudier les données disponibles sur l'influence de la mort et de la conservation afin d'adapter les réglages de l'appareil lors des acquisitions afin d'obtenir des images exploitables et de ne pas risquer d'erreurs dans l'interprétation des résultats.

2.3.2.1 Modification du T1 et du T2

La fixation du formaldéhyde dans les tissus favorise la réticulation protéique¹⁴ [119], [120] mais aussi l'immobilisation des molécules d'eau et la déshydratation tissulaire [121], [122] et peut donc entraîner une réduction des temps de relaxation T1 et T2 [123]. De nombreuses études déjà menées montrent que le T1 diminue avec le temps de fixation au formol et cela quelles que soient les structures du cerveau concernées [124], [125], [126], [127], [128], [129], [130].

Tableau 4. Estimation du temps nécessaire pour obtenir une stabilisation de la fixation*[121].

| Region | Tissue type | Direct formalin exposure | Days (CI) |
|-----------------------------|-------------|--------------------------|---------------|
| Frontal cortex | GM | Yes | 165 (143-183) |
| Thalamus | GM | No | 170 (150-192) |
| Anteromedial temporal lobe | GM | Yes | 206 (186-223) |
| Subcortical WM | WM | No | 165 (154-174) |
| Splenium of corpus callosum | WM | Yes | 143 (119-163) |
| Cerebellar WM | WM | No | 154 (124-189) |

*Ce tableau indique en jours le temps estimé qu'il faudrait pour que chaque région d'intérêt sélectionnée ne montre plus que très peu de changement du temps de relaxation T1 (pente de 3 ms / semaine), indiquant que la fixation est complète.

Ce tableau montre l'importance de réaliser les acquisitions IRM au même intervalle de fixation pour chaque individu mais également que la stabilisation du T1 peut prendre plus de 6 mois pour certaines régions du cerveau.

¹⁴ En chimie, la réticulation est une transformation d'un polymère linéaire en polymère tridimensionnel par création de liaisons transversales.

Concernant spécifiquement le T2, une étude menée en 2009, sur des hémisphères cérébraux humains, a analysé les modifications du T2 en fonction du temps de fixation (jusqu'à quatre mois *post-mortem*) et de la profondeur des tissus, puisque comme nous l'avons vu précédemment, la diffusion de la solution de conservation est progressive (Figure 23).

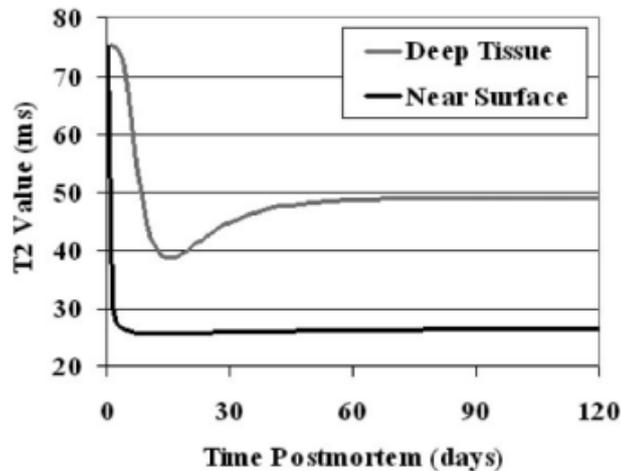


Figure 23. Valeurs T2 dans les voxels proches de la surface (courbe noire) et dans les tissus profonds (courbe grise), en fonction du temps de fixation en jours [115].

Les résultats de cette étude montrent que les valeurs de T2 diminuent plus rapidement dans les tissus superficiels que dans les tissus profonds. En surface, les valeurs de T2 diminuent fortement et rapidement pour se stabiliser après seulement quelques jours. Dans les tissus profonds, les valeurs de T2 diminuent pour ensuite augmenter et enfin atteindre un plateau à environ deux mois et demi *post-mortem*. Il est donc essentiel d'attendre un certain temps de fixation avant de réaliser l'examen IRM, d'avoir le même temps de fixation pour tous les individus ou d'attendre au moins deux mois et demi de fixation s'il n'est pas possible de réaliser les IRM au même moment.

2.3.2.2 Modification de la FA et de la MD

Une étude réalisée sur des cerveaux entiers de souris a montré que le temps écoulé entre la mort et la fixation chimique des tissus influence largement les propriétés de diffusion dans le cerveau [131]. Ainsi, afin de ne pas risquer de biaiser les résultats IRM d'une étude *post-mortem*, la fixation des tissus doit être effectuée rapidement et au même moment pour l'ensemble des individus de l'échantillon.

Concernant l'influence de la mort et de la fixation au formol dans le cadre de l'utilisation de la DTI, des études plus ou moins récentes suggèrent que celles-ci n'affecteraient pas systématiquement les paramètres de diffusion (valeurs FA et MD) de manière aussi significative que d'autres mesures tel que le T1 ou le T2 [130], [132], [133]. Il a d'ailleurs été montré par plusieurs études que la fixation n'affectait pas la FA [134], [135]. Pour autant, d'autres études réalisées jusqu'à présent sur des cerveaux animaux [136], [137] et humains [138], [139] montrent tout de même une diminution significative de la FA et de la MD, mais dépendante de la région considérée. Les résultats sont très discordants quant aux durées idéales de fixation [140], [141], la fixation étant plus ou moins accélérée en fonction du produit utilisé, de sa concentration, de la température à laquelle le spécimen est conservé mais également de sa taille. Il est donc communément admis que les modifications restent stables dans les 3 à 6 premiers mois de fixation *post-mortem* [142].

Des éléments étudiés précédemment, nous pouvons extraire des préconisations à prendre en compte lors d'acquisitions IRM *ex vivo* :

- Il est nécessaire de modifier les paramètres des séquences *in vivo* afin d'obtenir un bon rapport signal/bruit (exemple : augmenter la valeur du gradient de diffusion lors d'acquisition DTI),
- Il est impossible de comparer des données *in vivo* et des données *post-mortem*, il est donc nécessaire d'avoir un groupe contrôle *post-mortem* dans le cas d'étude comparative,
- Il est impératif de réaliser le même temps de fixation pour tous les échantillons de l'étude et ce temps doit être au minimum de 12 semaines,
- Les températures de stockage des échantillons et d'acquisition des images doivent être les mêmes pour l'ensemble des individus,
- Le temps de réhydratation des pièces anatomiques avant les acquisitions doit être le même pour chaque échantillon.

OBJECTIFS DE L'ETUDE EXPERIMENTALE

La revue bibliographique réalisée au cours de la première partie de cette thèse a montré l'intérêt de l'utilisation des ovins comme modèle d'étude translationnel dans le cadre de maladies neurodégénératives. Associé à l'IRM, technique d'imagerie non invasive et multimodale, le modèle ovin a déjà permis de nombreuses avancées scientifiques pour les maladies que nous avons étudiées (CLN, GD, MH, ESST) et pour bien d'autres encore.

L'utilisation des techniques IRM récentes comme la diffusion et la tractographie permettrait d'apporter de nouveaux éléments à travers, par exemple, l'évaluation de biomarqueurs diagnostiques ou pronostiques. Pour pouvoir réaliser ce genre de séquences, il est nécessaire d'utiliser des scanners IRM de haut champ (1.5 et 3 Tesla) encore peu disponibles en médecine vétérinaire. L'accès des animaux de rente à ce genre de scanners IRM reste en effet actuellement limité à des IRM de recherche, généralement dédiés à l'étude de patients humains et de modèles animaux « classiques », pour lesquels il est difficile d'obtenir une autorisation d'utilisation pour les petits ruminants du fait des contraintes de désinfection et de mise en place de circuits séparés. La réalisation de séquences IRM *post-mortem* chez le modèle ovin de maladies neurodégénératives apparaît donc comme une alternative pertinente, puisque, comme nous venons de l'étudier, il est possible d'analyser des données DTI *post-mortem* à conditions de respecter certaines recommandations (temps de fixation, obtention de données de base pour un groupe sain).

Dans ce contexte, le but de ce travail était de réaliser une étude de faisabilité de l'IRM multimodale *ex vivo* de l'encéphale d'ovins avec l'IRM 3 Tesla du plateau technique de l'Institut des Sciences du Cerveau de Toulouse (ISCT). Cette étude de faisabilité, réalisée sur un groupe de cinq moutons sains, constitue l'étape préliminaire indispensable à la mise en place de futures études IRM *ex vivo* sur encéphales d'ovins atteints de maladies neurodégénératives.

Pour cette étude de faisabilité, des séquences anatomiques (T1 et T2) et une séquence DTI ont été réalisées. Afin de s'assurer de la qualité des données *post-mortem* obtenues, deux objectifs particuliers ont été définis :

- (i) réaliser un atlas IRM 2D de l'encéphale du Mouton sain à partir des images T1 et T2 obtenues, et établir ainsi une liste des structures cérébrales reconnaissables sur les séquences anatomiques *post-mortem* mises au point au plateau technique de l'ISCT,

(ii) calculer, à partir des données DTI obtenues, la FA et la MD au sein de quatre régions d'intérêt (noyau caudé, putamen, globus pallidus, hippocampe) choisies de manière aléatoire et dont l'identification a été permise grâce aux images pondérées en T1 et T2.

La partie qui suit est consacrée à la méthodologie mise en place pour répondre à ces deux objectifs et aux résultats obtenus pour chacun d'entre eux.

CONTRIBUTION EXPERIMENTALE

1 Matériel et méthodes

1.1 Préparation des spécimens *ex vivo*

Cinq ovins mâles castrés importés de Nouvelle-Zélande, âgés de 5 ans, de race cheviot et de génotype AHQ-AHQ¹⁵, ont été utilisés pour ce travail. Les moutons ont été euthanasiés par une injection intraveineuse létale d'environ 15 ml d'euthanasique T61®, composé d'embutramide (anesthésique général, narcotique et dépresseur respiratoire), de mébézonium (curarisant) et de tétracaïne (anesthésique local). La procédure de mise à mort a été effectuée conformément aux lignes directrices françaises. Les moutons ont ensuite été saignés par la veine jugulaire externe et les têtes ont été extraites par section entre l'occiput et l'atlas ou entre l'atlas et l'axis suivant les animaux. Après extraction, les têtes de moutons ont été perfusées avec une solution de rinçage (NaCl, débit : 15 ml/min, temps de perfusion : 5 min) puis avec une solution fixative (formol 10%, débit : 15 ml/min, temps de perfusion : 5 min) à l'aide de cathéters reliés à une pompe et introduits dans chacune des artères carotides communes. Elles ont ensuite été stockées dans des containers remplis de formol 10% jusqu'à la réalisation des examens IRM. Il s'est toujours écoulé moins d'une heure entre la mise à mort de l'animal et la fixation chimique des têtes de moutons.

1.2 Acquisitions IRM

Les examens IRM ont eu lieu au plateau technique IRM de l'ISCT. Les acquisitions ont donc été réalisées en *post-mortem* sur tête entière avec une IRM haut champ 3 Tesla (Achieva, Philips) à aimant court, dédiée à la recherche en neurosciences. Vingt-quatre heures avant les acquisitions IRM, les têtes ont été rincées plusieurs fois dans l'eau, séchées puis enveloppées dans trois couches d'alèses hermétiques. Les têtes ainsi enveloppées ont été placées dans l'IRM, rostre vers l'aimant, sur la plateforme de la machine et deux antennes de surface « dStream flex coil » ont été utilisées et disposées de part et d'autre du crâne. Pour aider au placement des antennes; les yeux, le rostre et le plan de symétrie bilatérale étaient indiqués au feutre sur l'alèse la plus superficielle enveloppant la tête. Pour chaque mouton, trois séquences ont été réalisées, une pondérée en T1, une pondérée en T2 et enfin une pondérée en diffusion (DTI). La mise au point de la séquence DTI *post-mortem* ayant nécessité plus de travail que celle des séquences anatomiques, les examens IRM ont été réalisés en deux sessions : une première session ayant été consacrée aux séquences pondérées

¹⁵ Génotype dit « sensible » à la tremblante.

en T1 et T2 (temps de fixation moyen : 132 +/- 0,5 jours), et une seconde session ayant été consacrée à la séquence DTI (temps de fixation moyen : 550 +/- 11 jours). Les paramètres utilisés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5. Paramètres d'acquisition utilisés pour les séquences d'IRM anatomique (T1 et T2) et de diffusion de l'encéphale de mouton

| Acquisition | Type | TE (ms) | TR (ms) | Résolution spatiale (mm³) | Temps d'acquisition |
|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|---|----------------------------|
| T1 | Echo de Gradient | 3,993 | 8,531 | 0,6 | 1882 (~30min) |
| T2 | Echo de Spin | 244.585 | 2500 | 0,6 | 1207(~20min) |
| Diffusion | EPI-SE | 76 | 5306 | 2 | 2298 (~38min) |

Pour l'imagerie de diffusion, la reconstruction du tenseur de diffusion a été réalisée suivant les paramètres présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. Paramètres de reconstruction du tenseur de diffusion pour l'étude multiparamétrique de l'encéphale de mouton.

| Reconstruction | Nombre de directions | Répartition des directions | Valeur de b^{16} (s/mm²) |
|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------------|---|
| DTI | 32 | Optimisée (Phillips) | 3000 |

1.3 Légendes de l'atlas

Les structures anatomiques ont été identifiées à l'aide d'un atlas histologique de l'encéphale du Mouton réalisé par l'université du Michigan et disponible en ligne [143]. Les images pondérées en T1 et T2 ont été légendées grâce au logiciel Publisher et inscrites en français.

¹⁶ b est un facteur qui exprime le degré de pondération en diffusion.

1.4 Analyse des données IRM

1.4.1 Segmentation manuelle des régions d'intérêt

Dans un premier temps, des régions d'intérêt (ROI pour *Region Of Interest* en anglais) ont été choisies de manière aléatoire : l'hippocampe, le noyau caudé, le pallidum et le putamen, ces trois derniers faisant partie des noyaux de la base. Ces ROIs ont ensuite été contourées manuellement sur des images pondérées en T2 à l'aide du logiciel MRICron sur l'ensemble des individus (Figure 24 et 25).

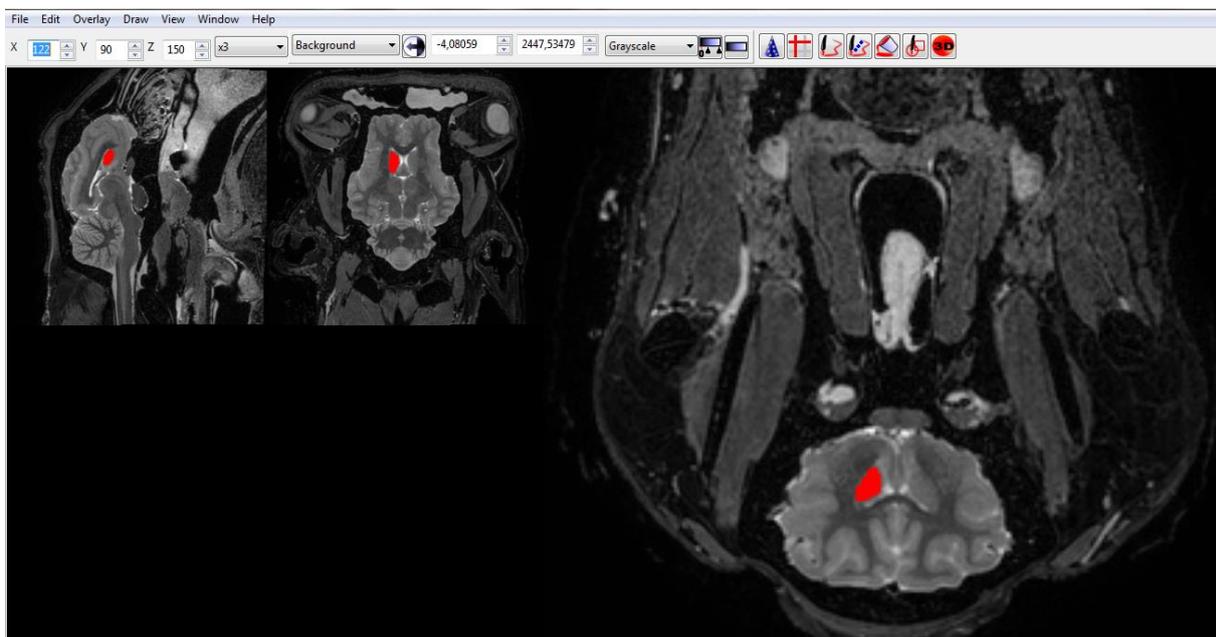


Figure 24. Exemple de fenêtre de contourage manuel de la ROI noyau caudé droit dans le logiciel MRICron.

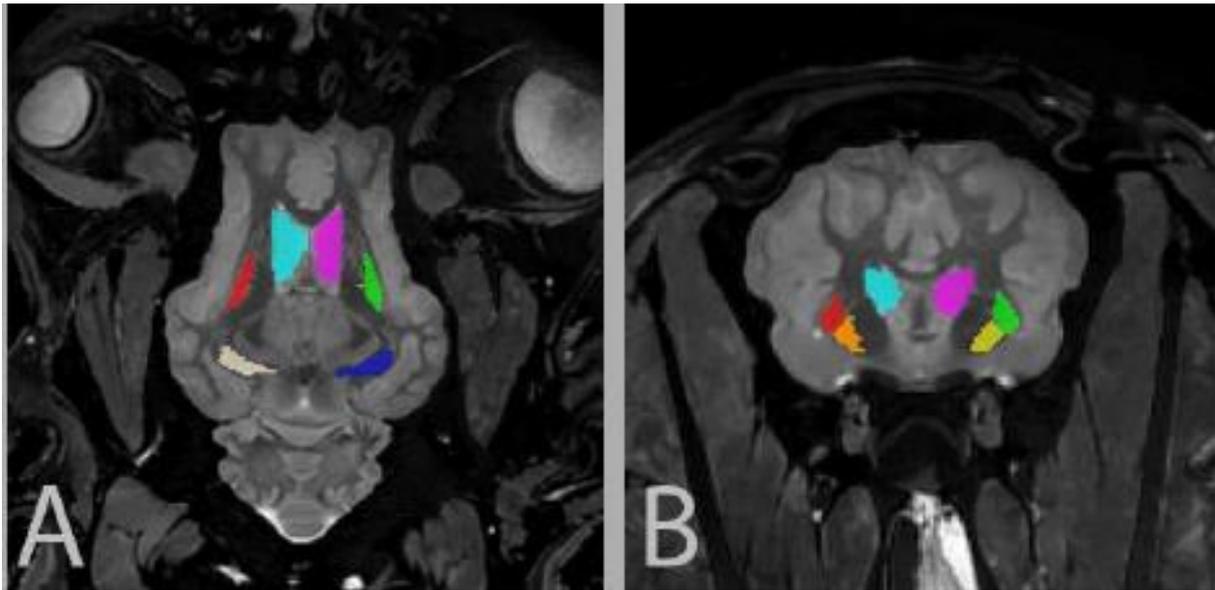


Figure 25. Présentation des ROI réalisées manuellement chez un mouton sain sur une coupe dorsale (A) et une coupe transversale (B) pondérée en T2. Turquoise : Noyau caudé droit, Rose : Noyau caudé gauche, Rouge : Putamen droit, Vert : Putamen gauche, Orange : Pallidum droit, Jaune : Pallidum gauche, Beige : Hippocampe droit, Bleu : Hippocampe gauche.

1.4.2 *Traitement des données issues de la diffusion*

Les images pondérées en diffusion de l'un des moutons de notre étude ont présenté des distorsions trop importantes pour permettre une reconstruction correcte du tenseur de diffusion, nous l'avons donc écarté de nos résultats.

Les acquisitions pondérées en diffusion ont été traitées avec le logiciel DSI Studio et la méthode décrite par P. Basser et al [144] a été utilisée pour la reconstruction du tenseur de diffusion. Pour modéliser le phénomène de diffusion, le modèle de tenseur de diffusion également décrit par P. Basser [144] a été utilisé. Les données brutes issues de l'acquisition DTI ont été débruitées en utilisant un filtre LPCA avec un modèle de bruit Ricien [145] sur MATLAB (The Math-work, Inc., MA, USA). Les données ont ensuite subi des corrections pour les distorsions causées par les courants de Foucault. Les cartes paramétriques de FA et MD ont ensuite été calculées puis recalées à leur T2 respectif, afin de permettre par la suite de transposer les différentes transformations spatiales et segmentations du T2 à ces cartes paramétriques. Les valeurs FA et MD de chaque ROI ont ensuite été calculées (moyenne de la valeur des voxels au sein de chaque ROI).

2 Résultats

2.1 Atlas de l'encéphale de moutons

L'ensemble de l'atlas a été réalisé à partir de sections issues d'images IRM pondérées en T1 et en T2.

2.1.1 *Image pilote*

Les images pilotes permettent de définir le plan de coupe et les différents niveaux de sections étudiés. Pour les coupes transversales, les niveaux ont été tracés sur une coupe sagittale d'encéphale de l'un des moutons de l'étude pondérée en T1. Pour les coupes dorsales, les niveaux ont été tracés sur une coupe sagittale pondérée en T2.

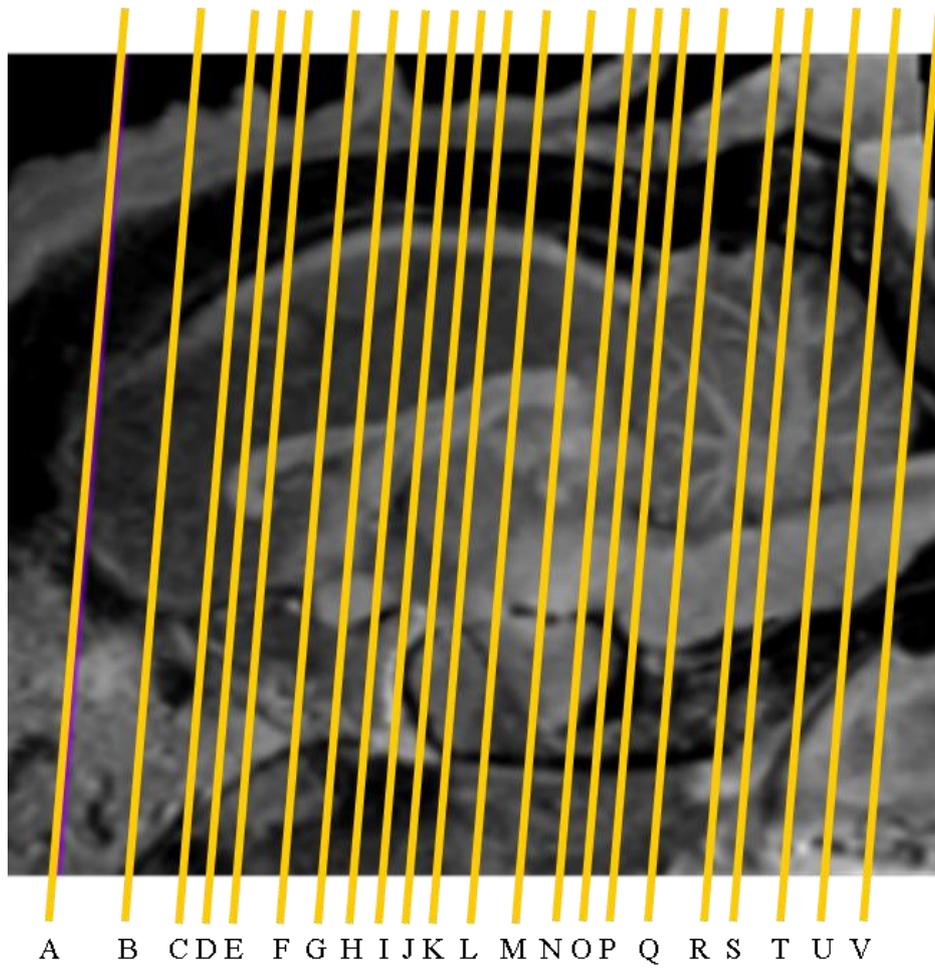


Figure 26. Coupes pilotes transversales

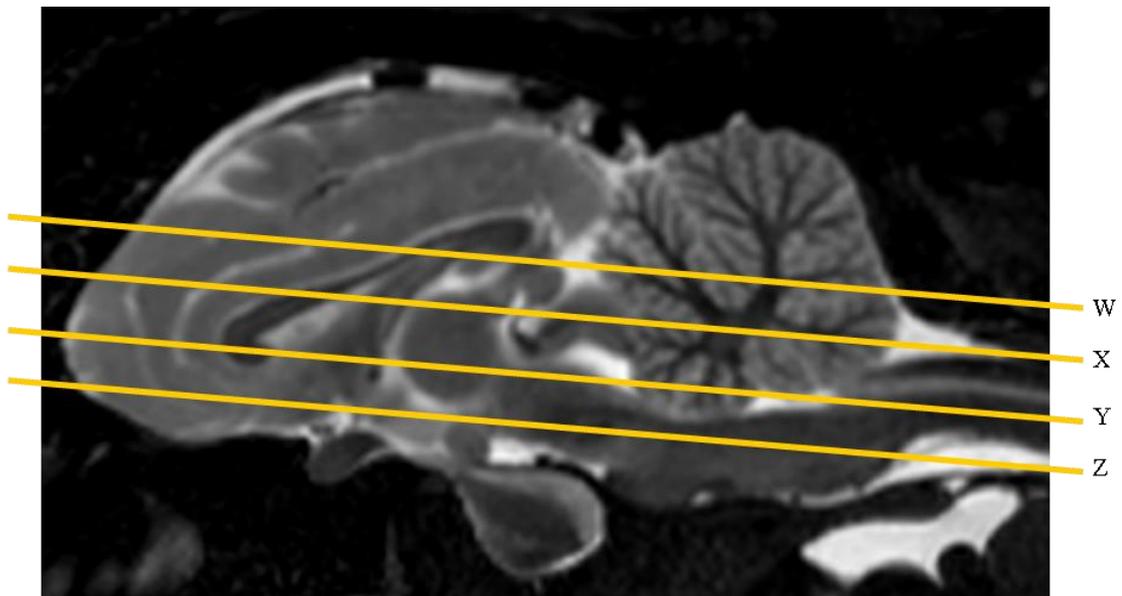
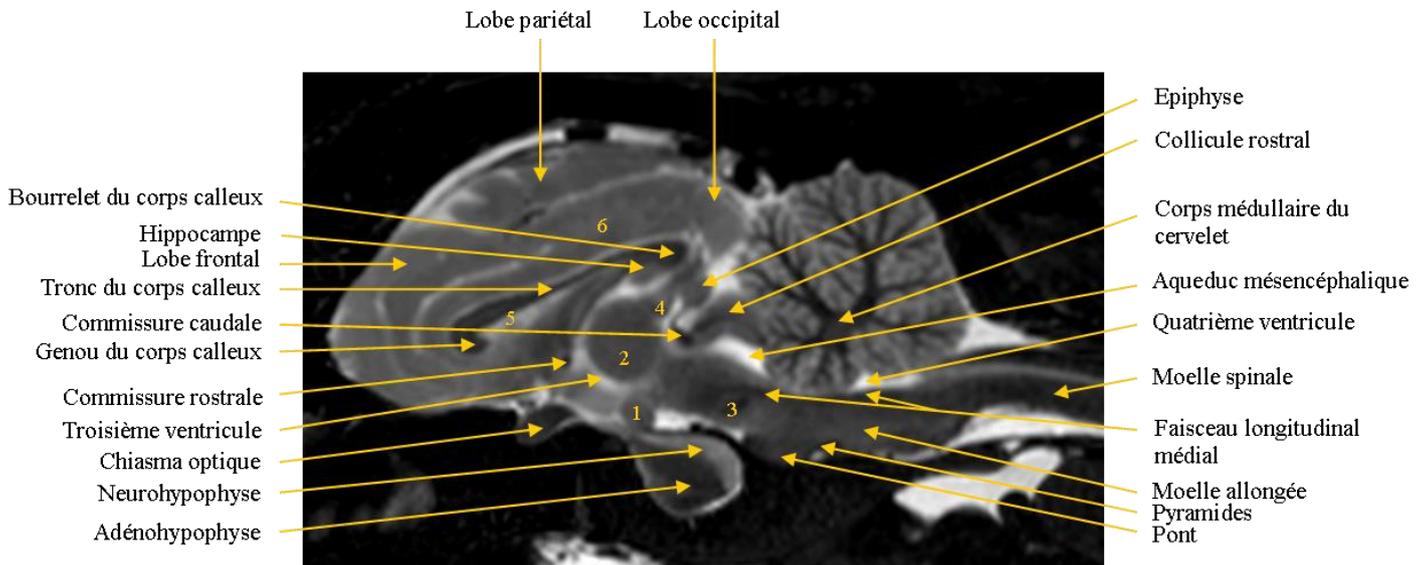


Figure 27. Coupes pilotes dorsales

2.1.2 Coupe médiane

La coupe médiane a été réalisée en pondération T2.



2.1.3 Coupes transversales

Les coupes transversales sont réalisées sur des images en pondération T1 et T2. Vingt-deux niveaux ont été sélectionnés, de la position rostrale à la position caudale, débutant en regard du bulbe olfactif et terminant au niveau de la moelle allongée. Ces coupes correspondent aux lignes de référence A-V tracées sur l'image pilote.

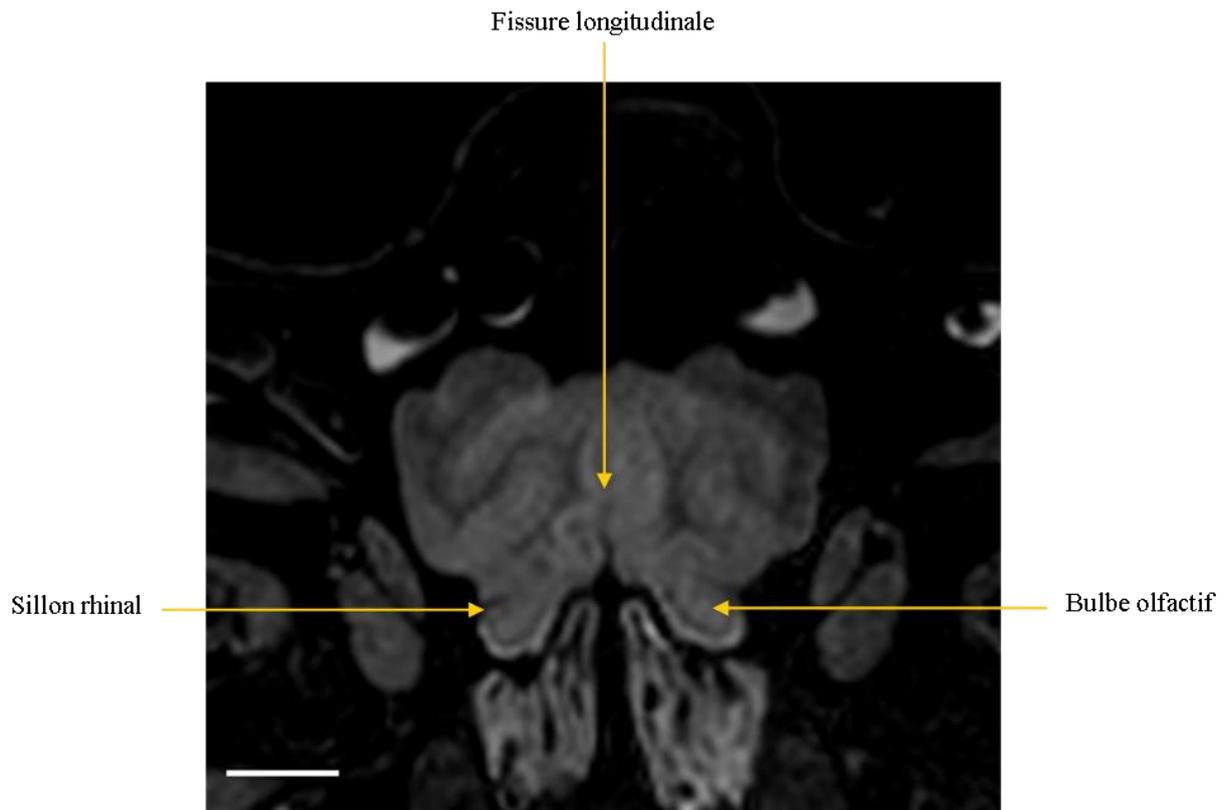


Figure 29. Niveau A – Coupe transversale pondérée en T2

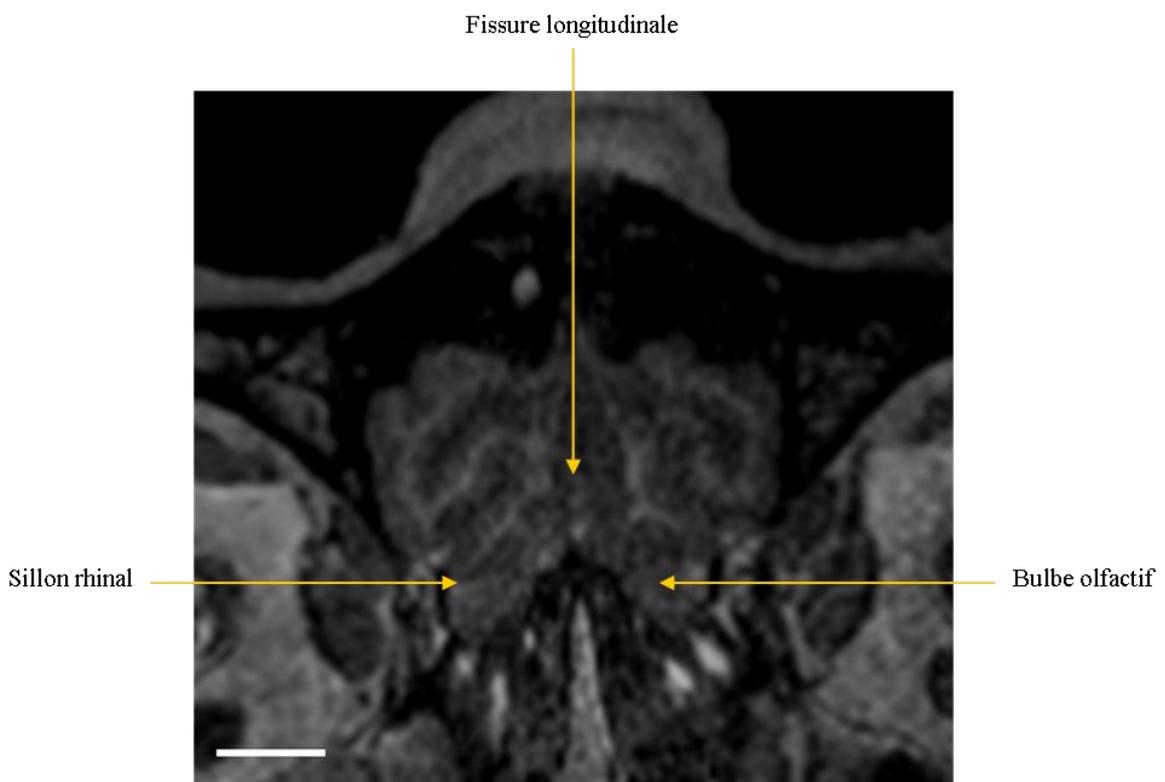


Figure 30. Niveau A – Coupe transversale pondérée en T1

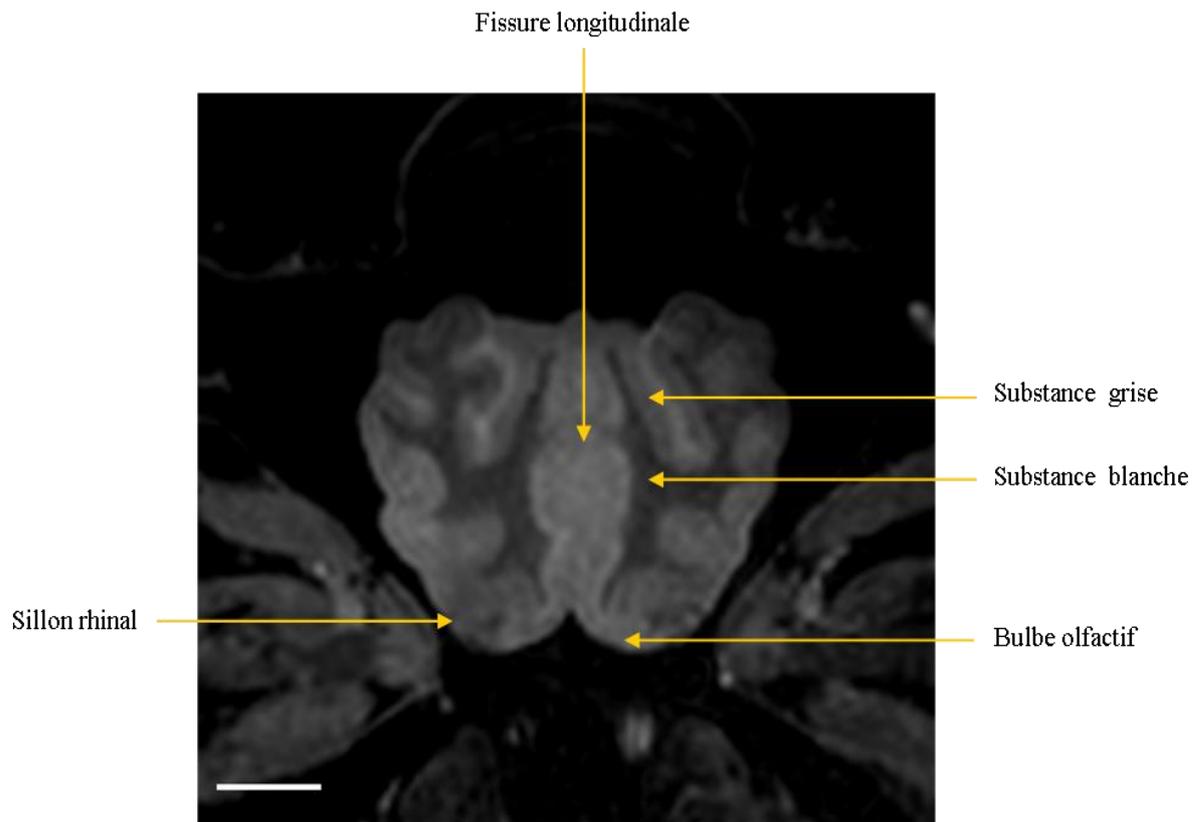


Figure 31. Niveau B – Coupe transversale pondérée en T2

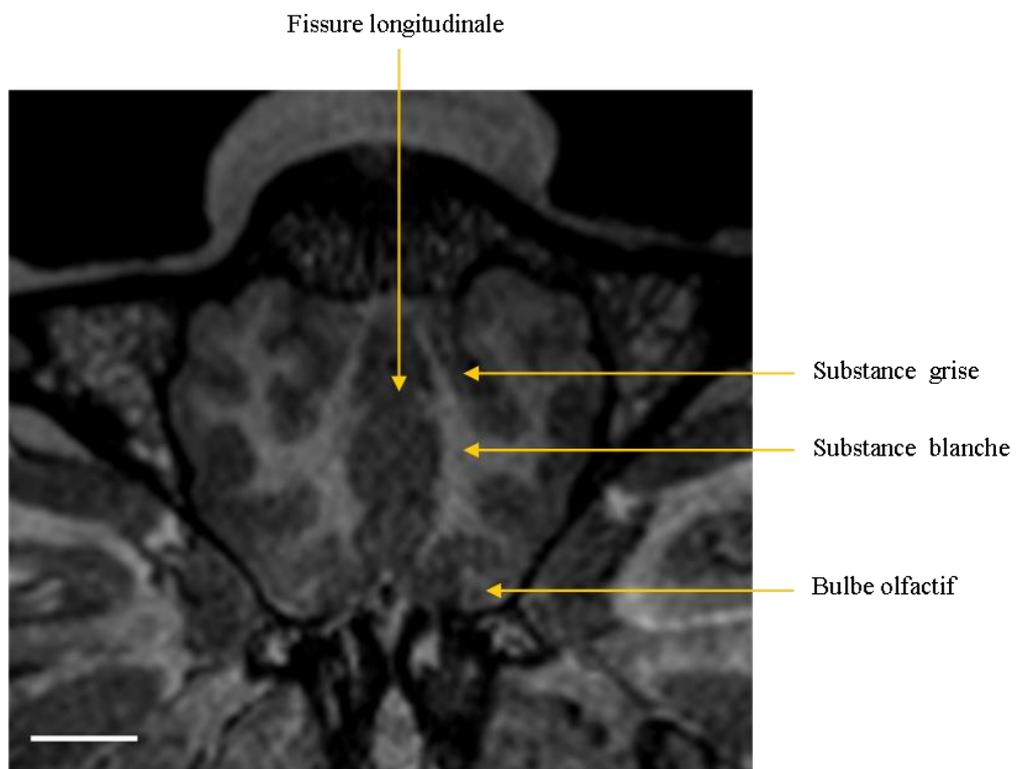


Figure 32. Niveau B – Coupe transversale pondérée en T1

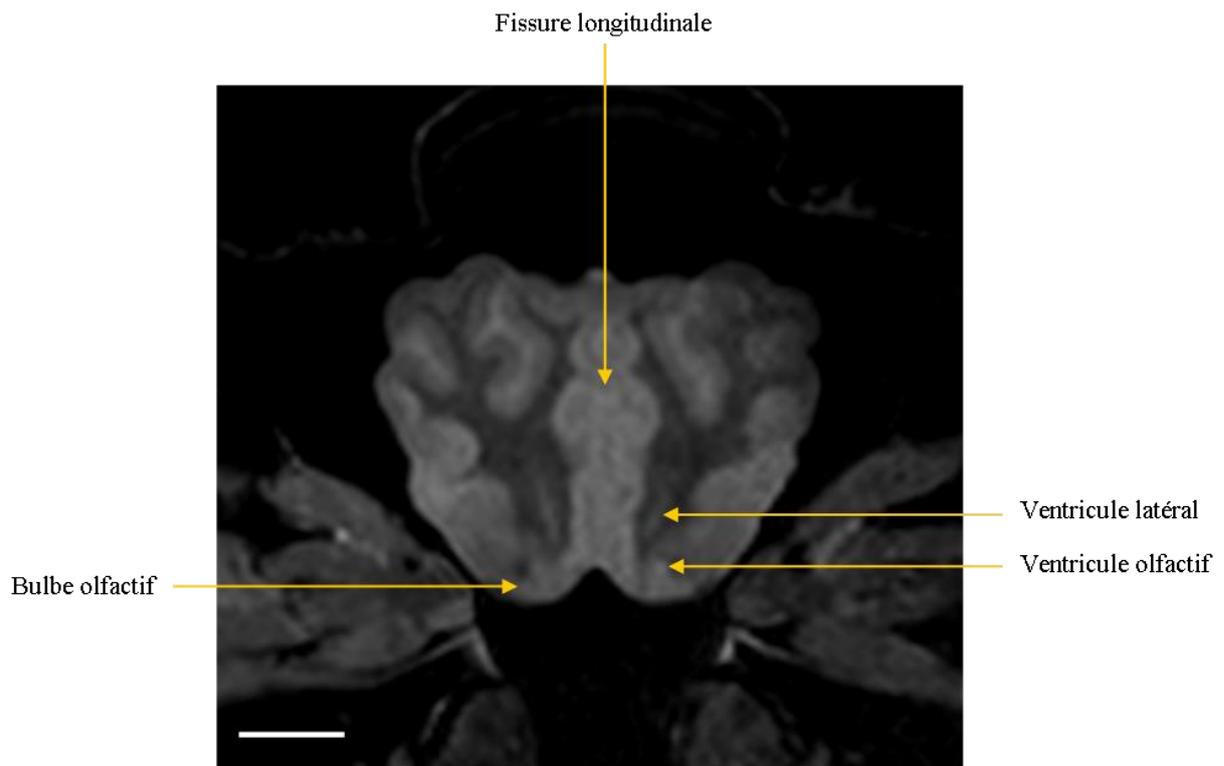


Figure 33. Niveau C – Coupe transversale pondérée en T2

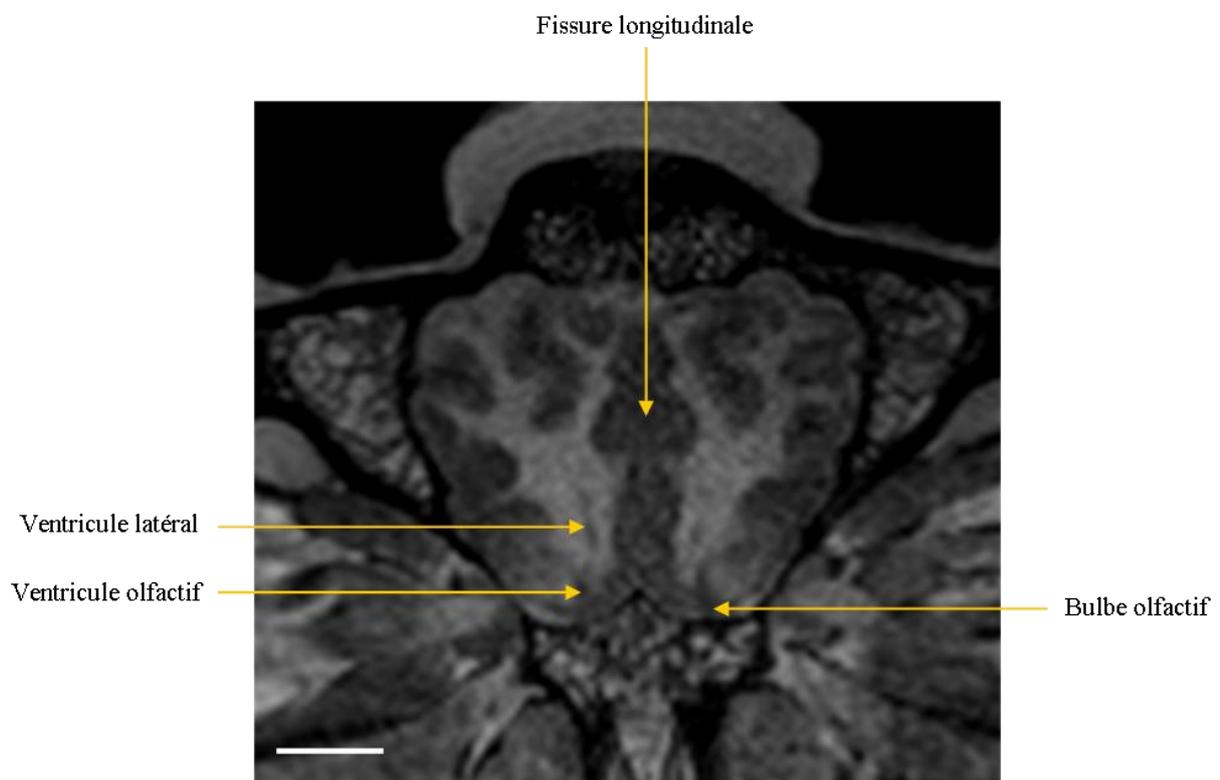


Figure 34. Niveau C – Coupe transversale pondérée en T1

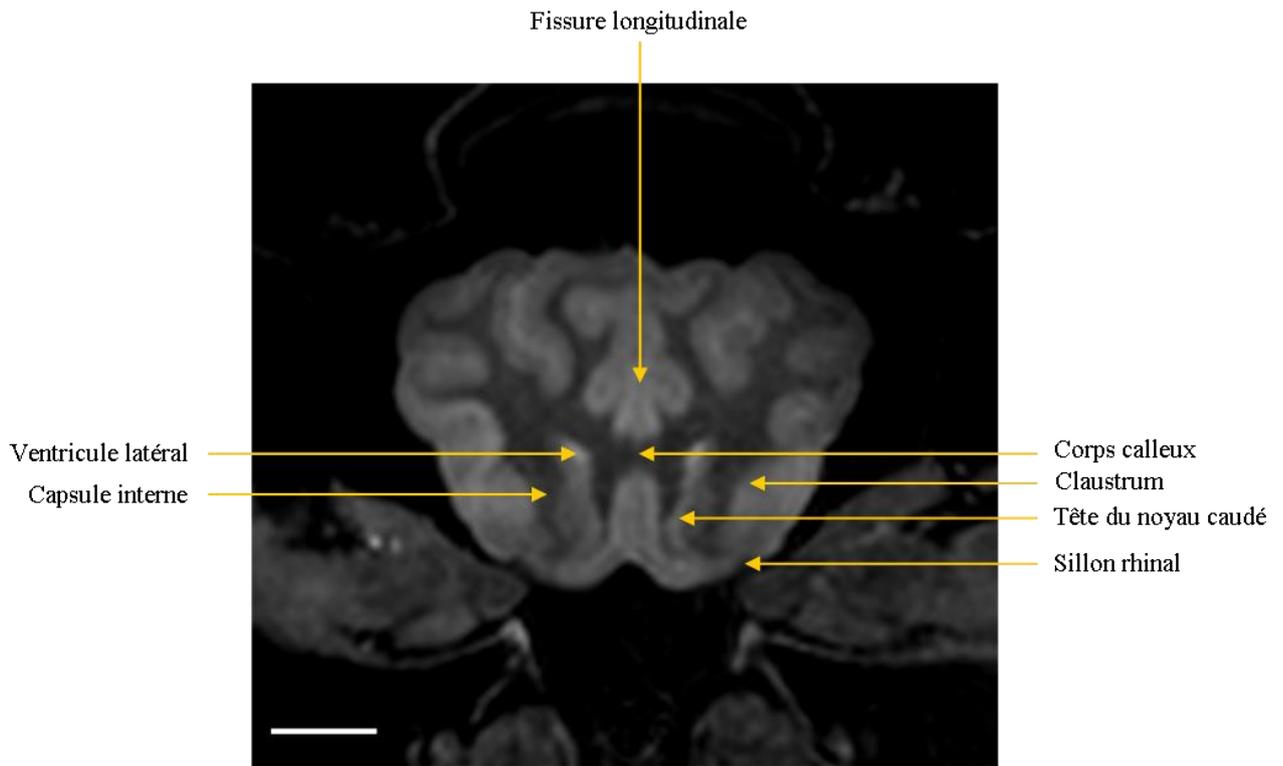


Figure 35. Niveau D – Coupe transversale pondérée en T2

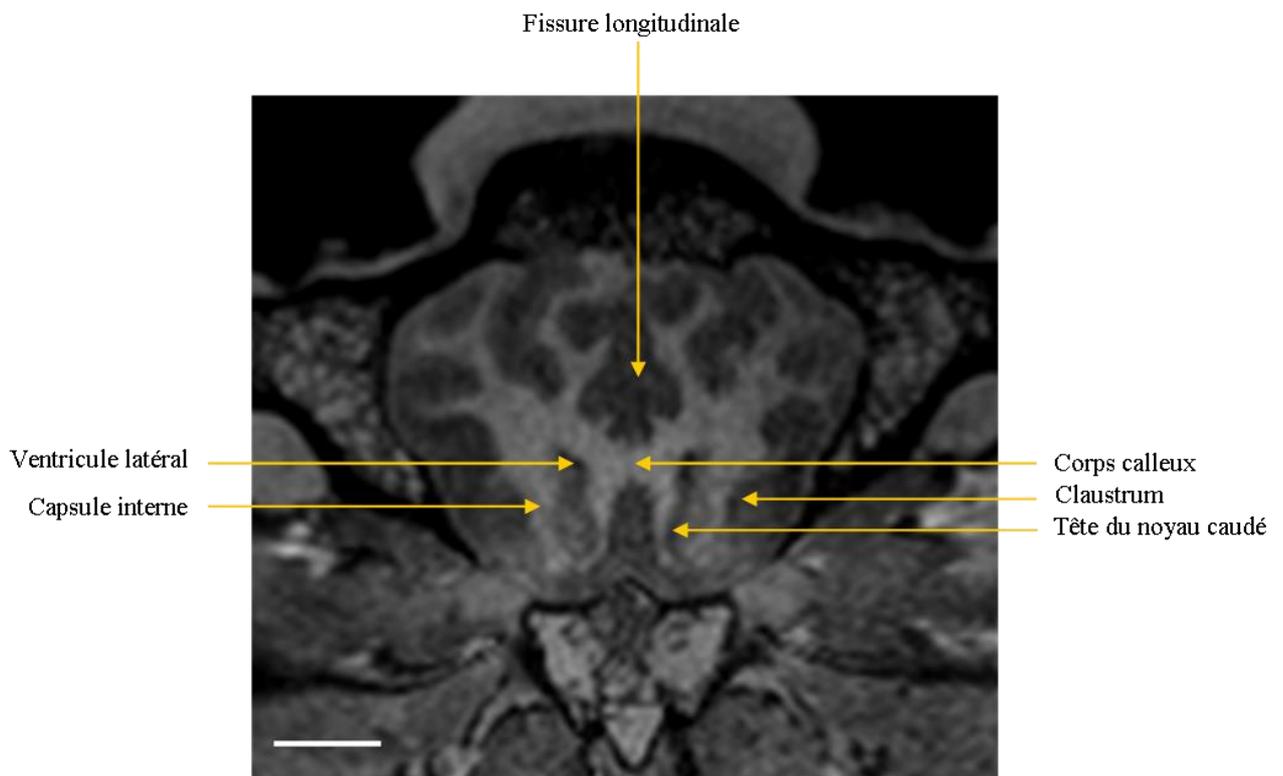


Figure 36. Niveau D – Coupe transversale pondérée en T1

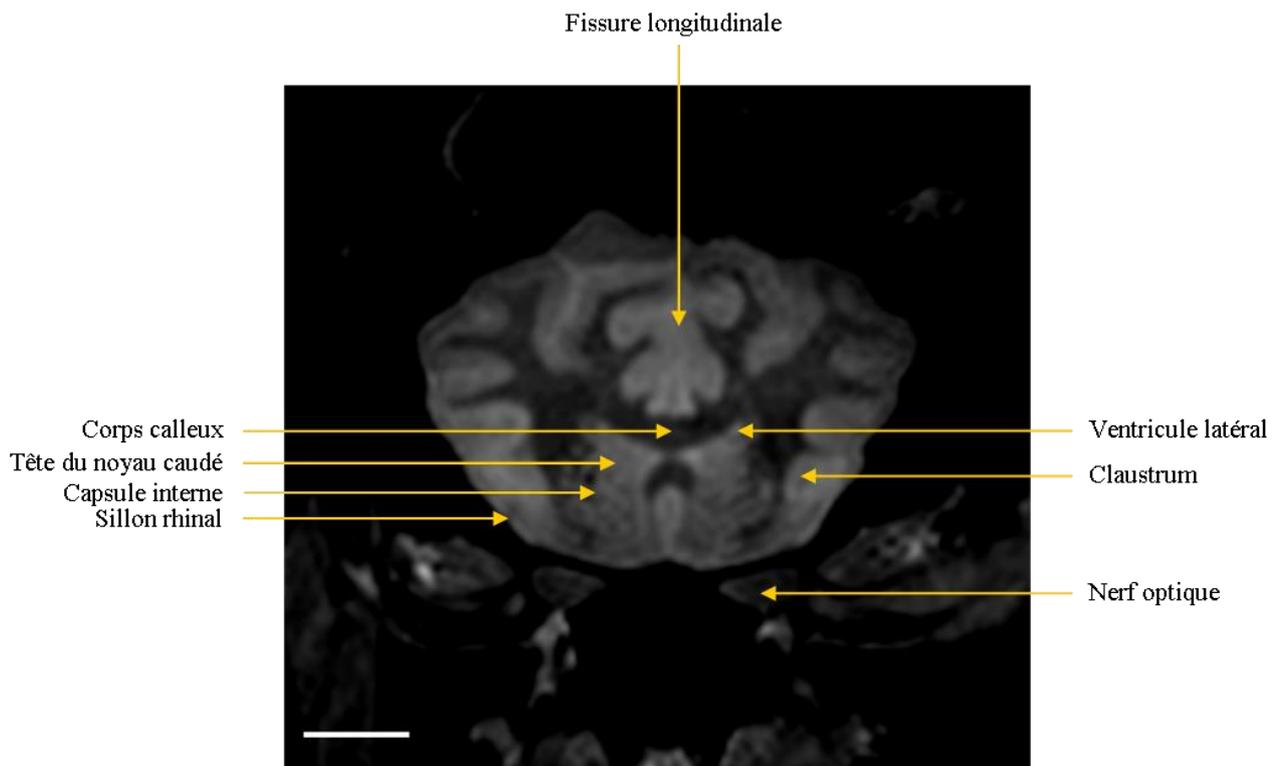


Figure 37. Niveau E – Coupe transversale pondérée en T2

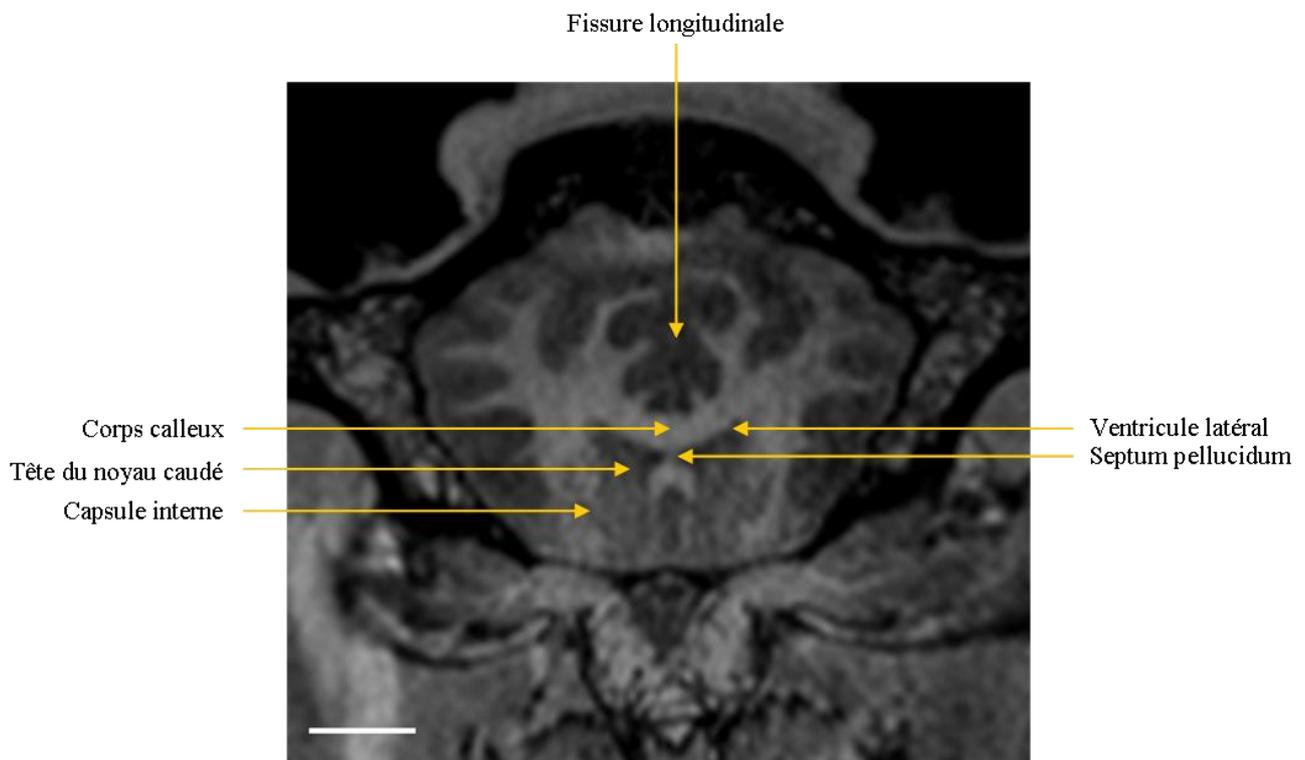


Figure 38. Niveau E – Coupe transversale pondérée en T1

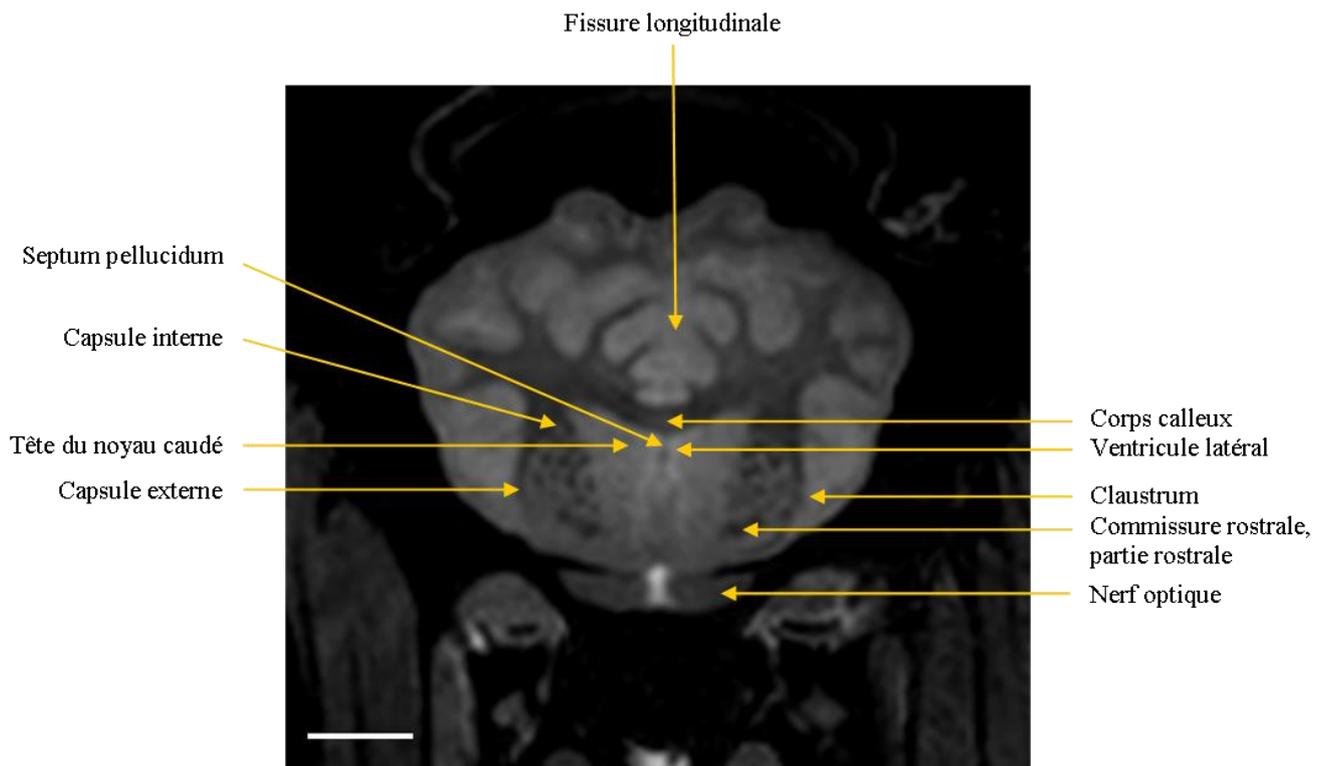


Figure 39. Niveau F – Coupe transversale pondérée en T2

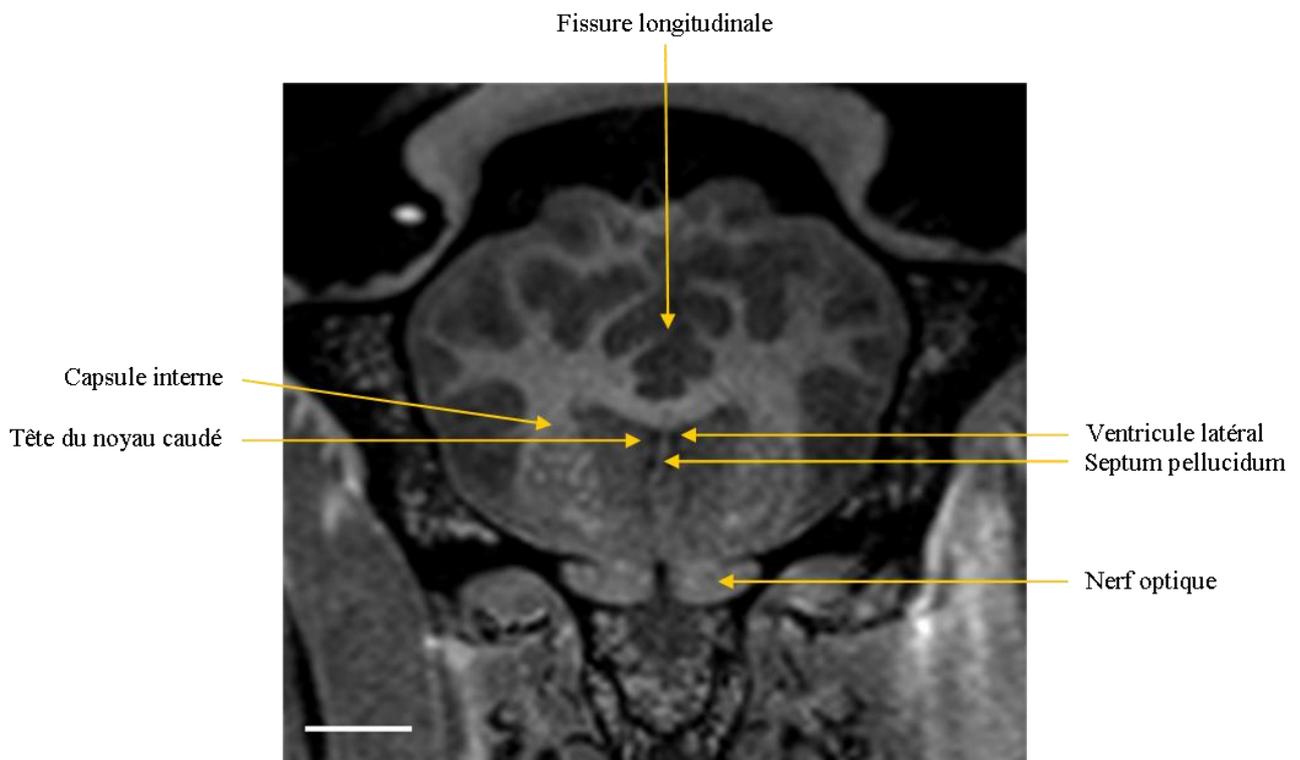


Figure 40. Niveau F – Coupe transversale pondérée en T1

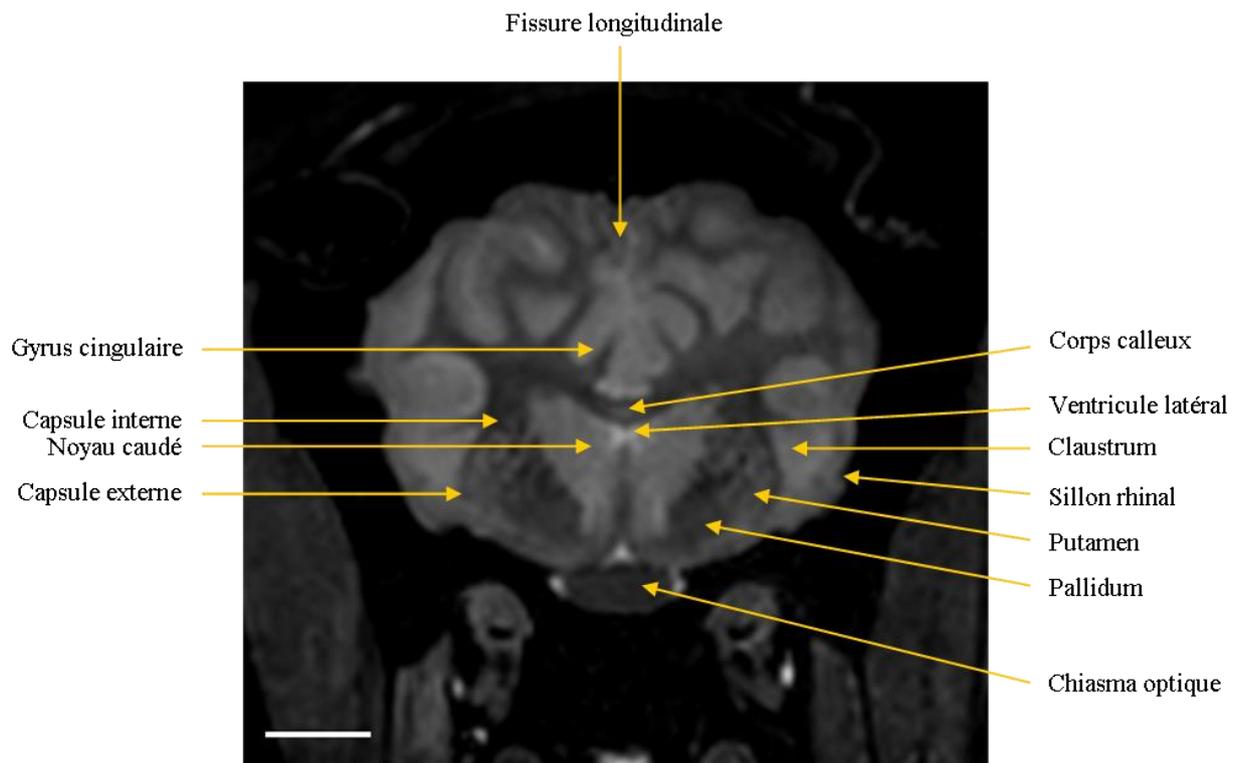


Figure 41. Niveau G – Coupe transversale pondérée en T2

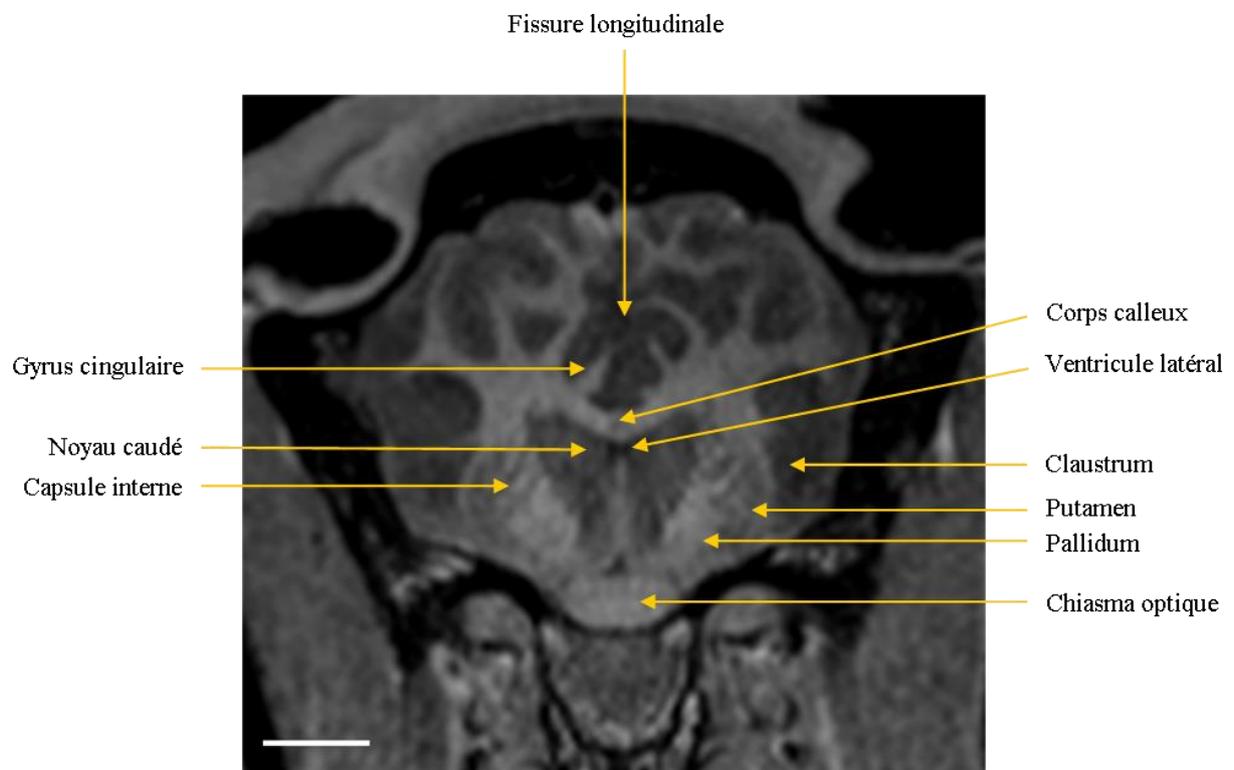


Figure 42. Niveau G – Coupe transversale pondérée en T1

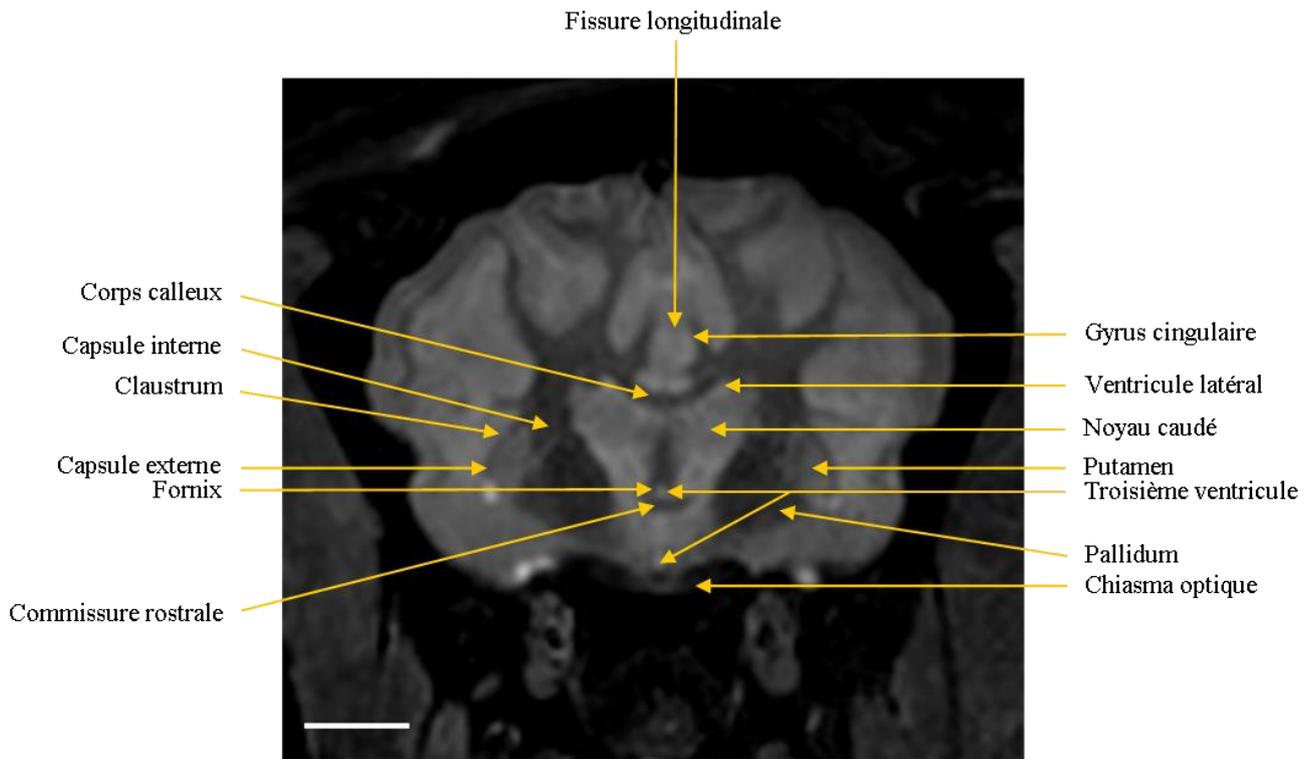


Figure 43. Niveau H – Coupe transversale pondérée en T2

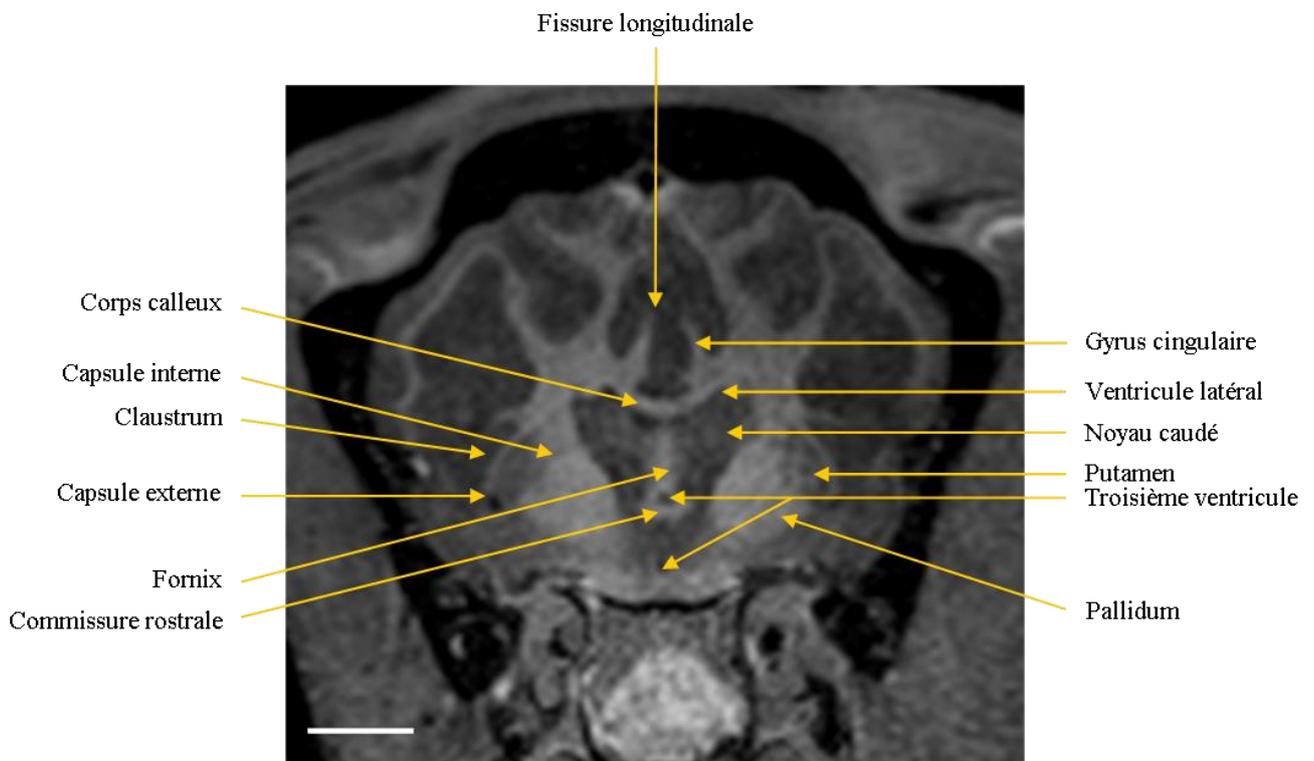


Figure 44. Niveau H – Coupe transversale pondérée en T1

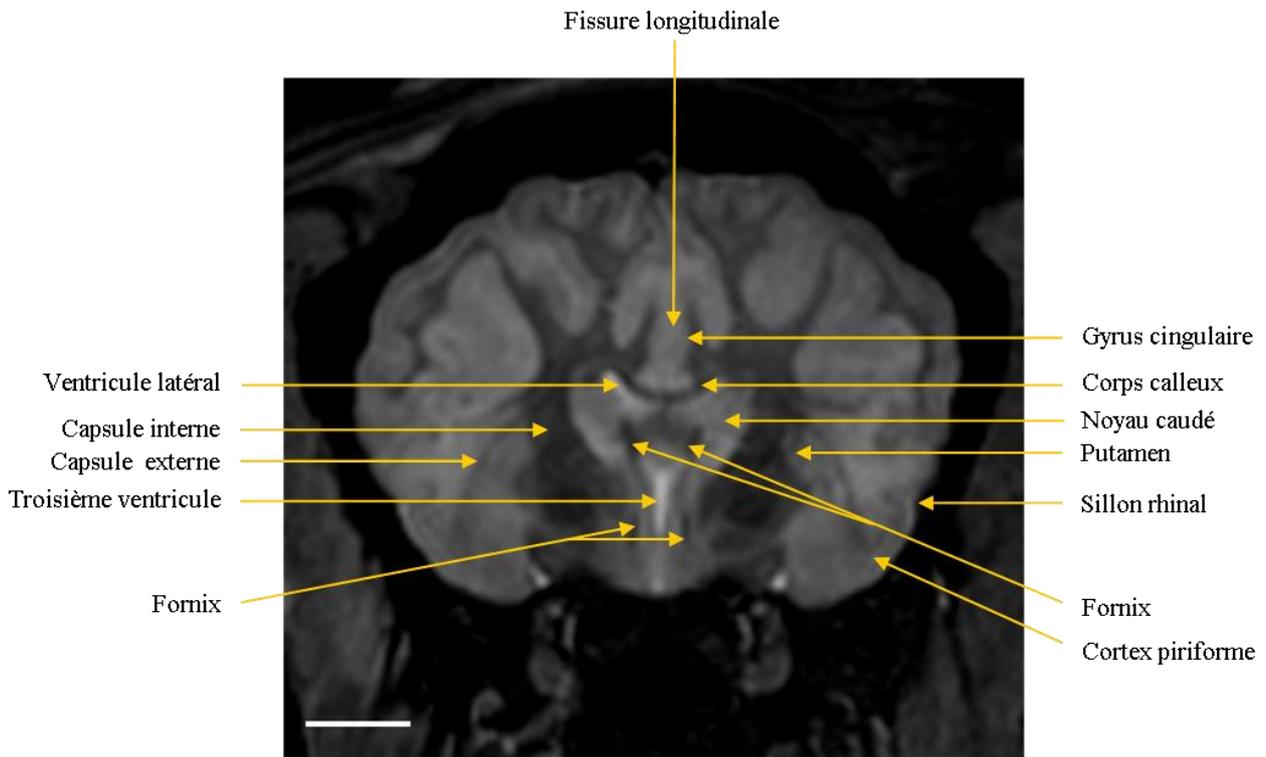


Figure 45. Niveau I – Coupe transversale pondérée en T2

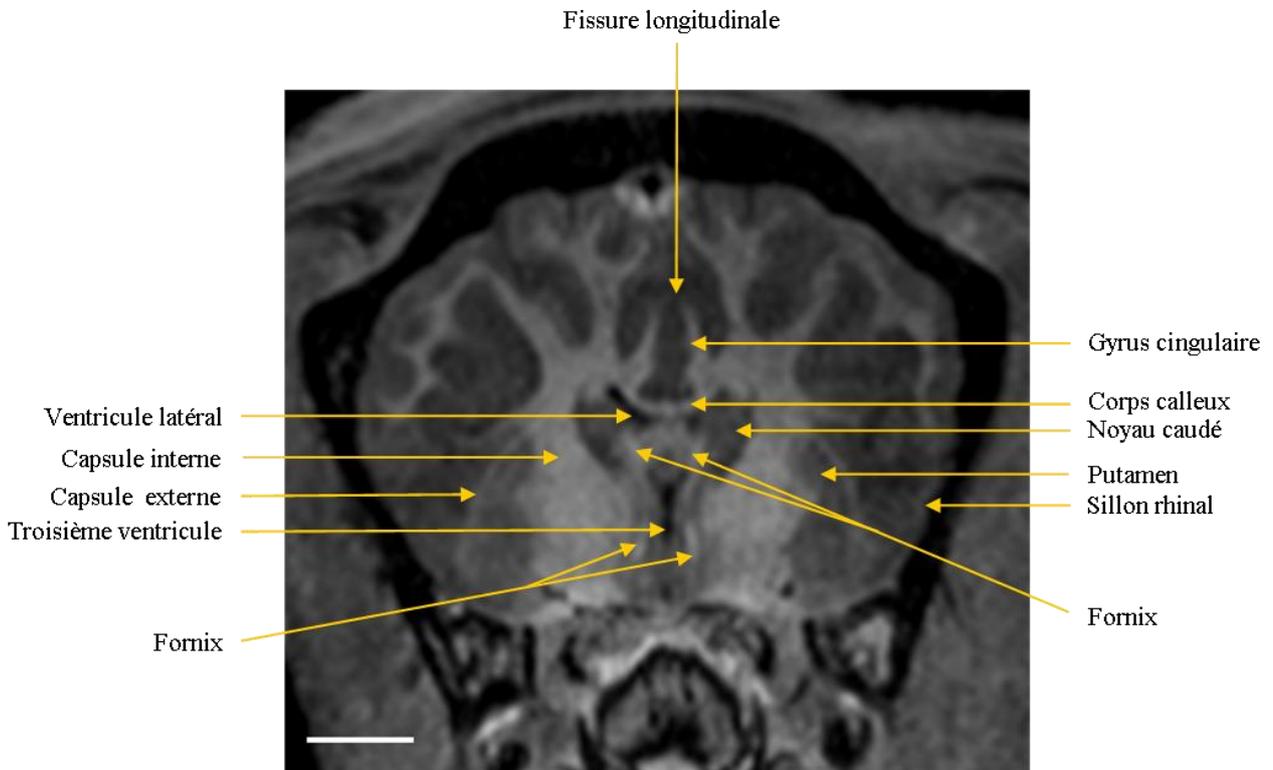


Figure 46. Niveau I – Coupe transversale pondérée en T1

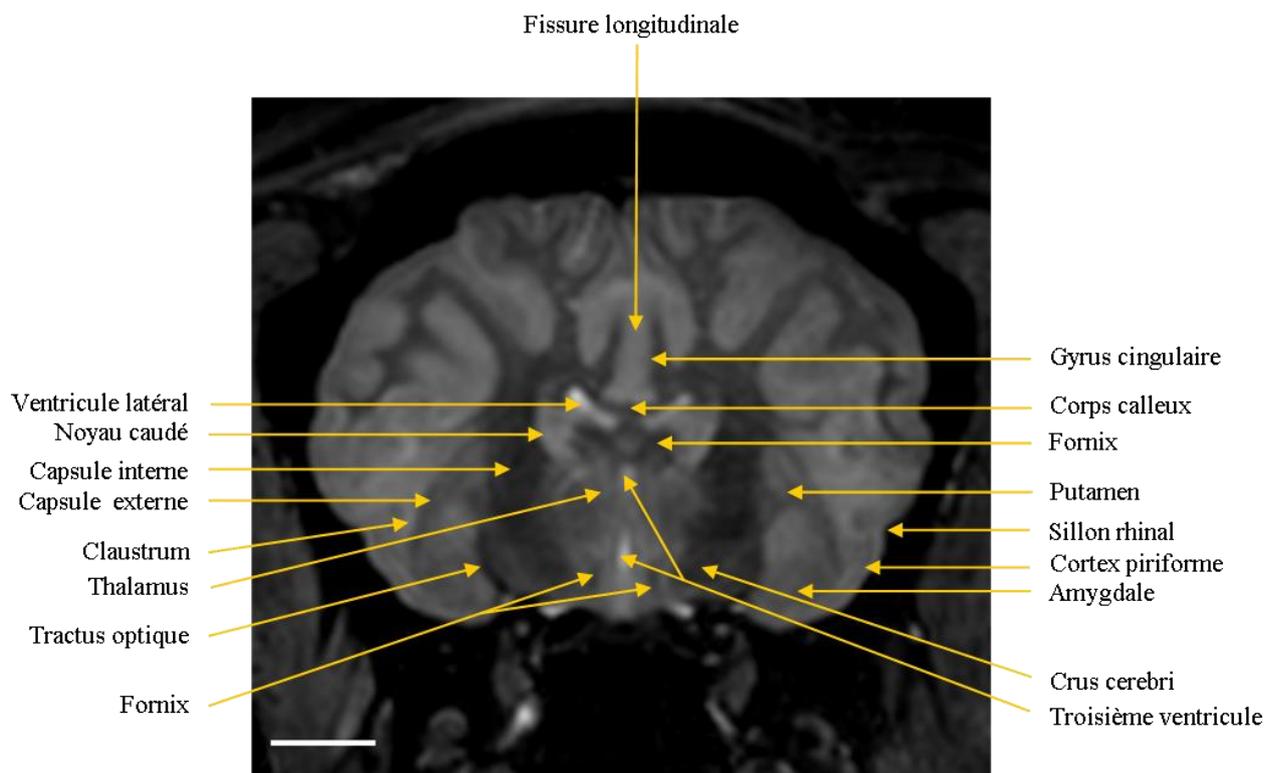


Figure 47. Niveau J – Coupe transversale pondérée en T2

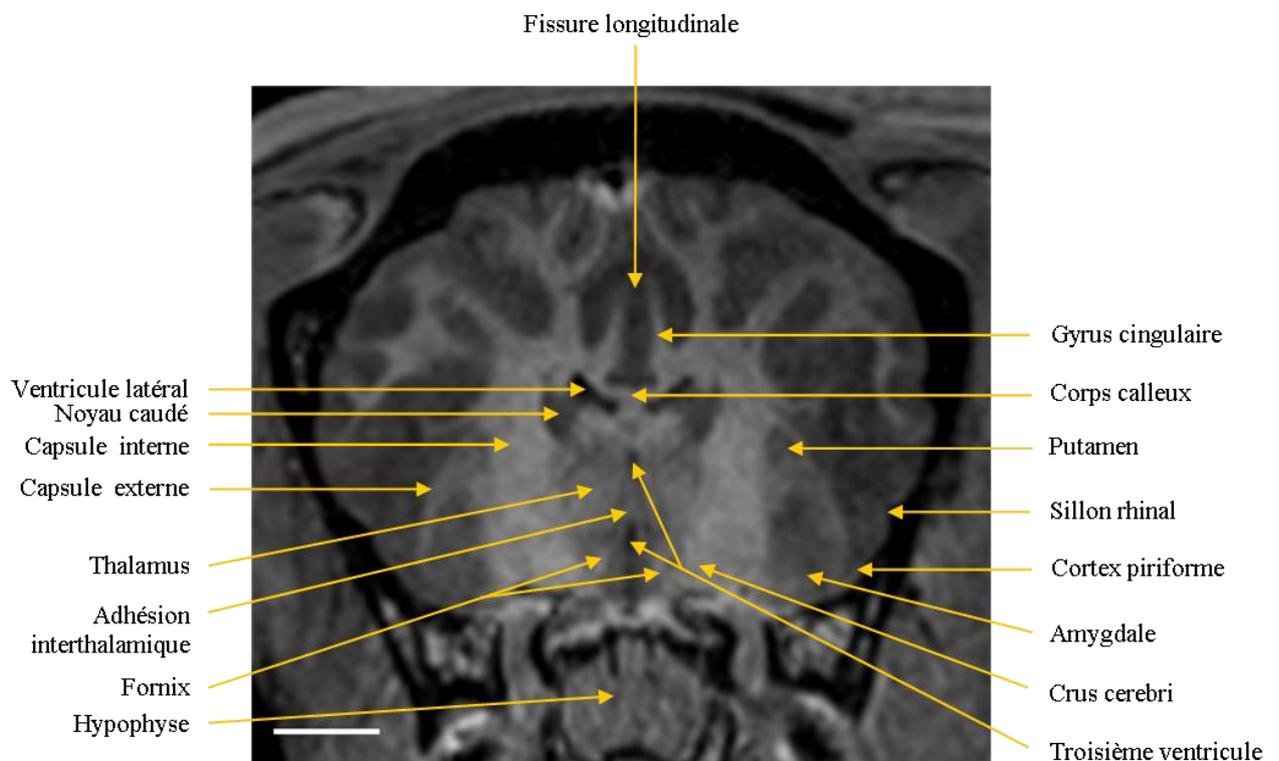


Figure 48. Niveau J – Coupe transversale pondérée en T1

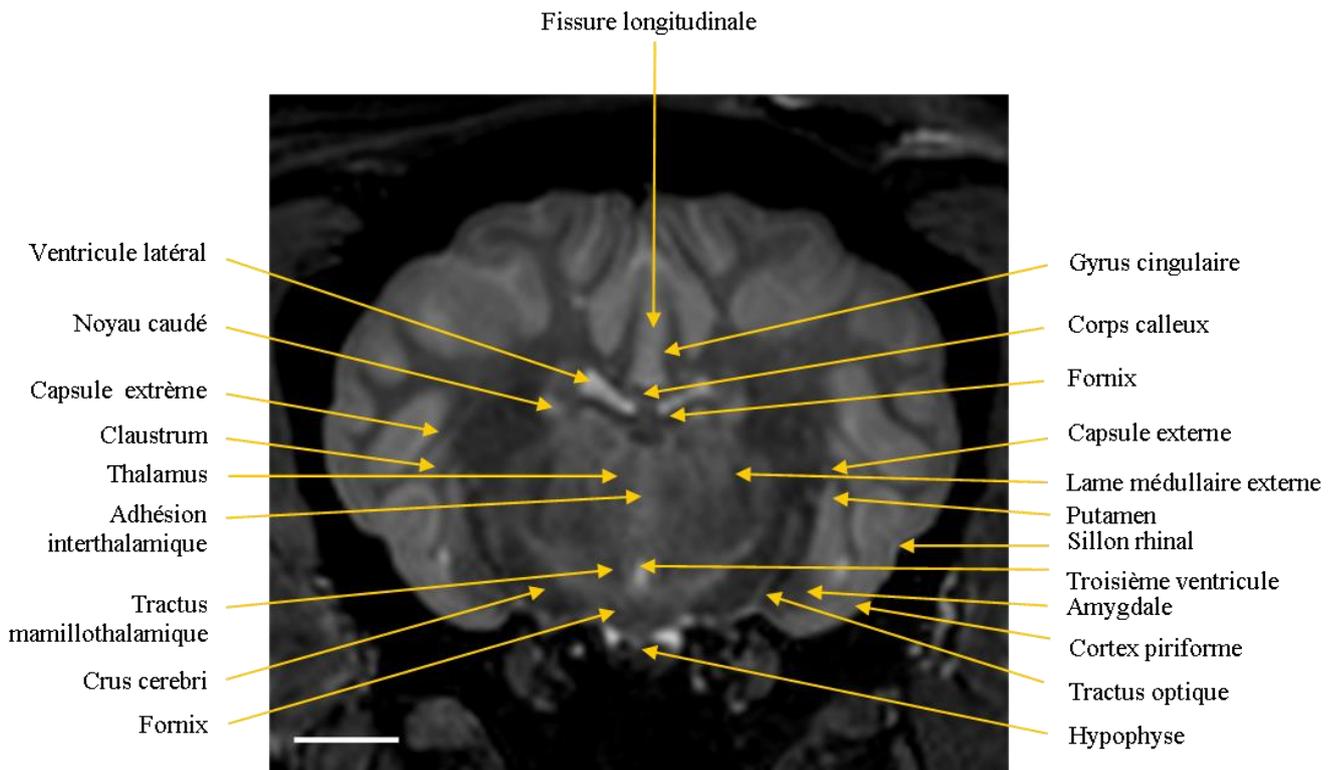


Figure 49. Niveau K – Coupe transversale pondérée en T2

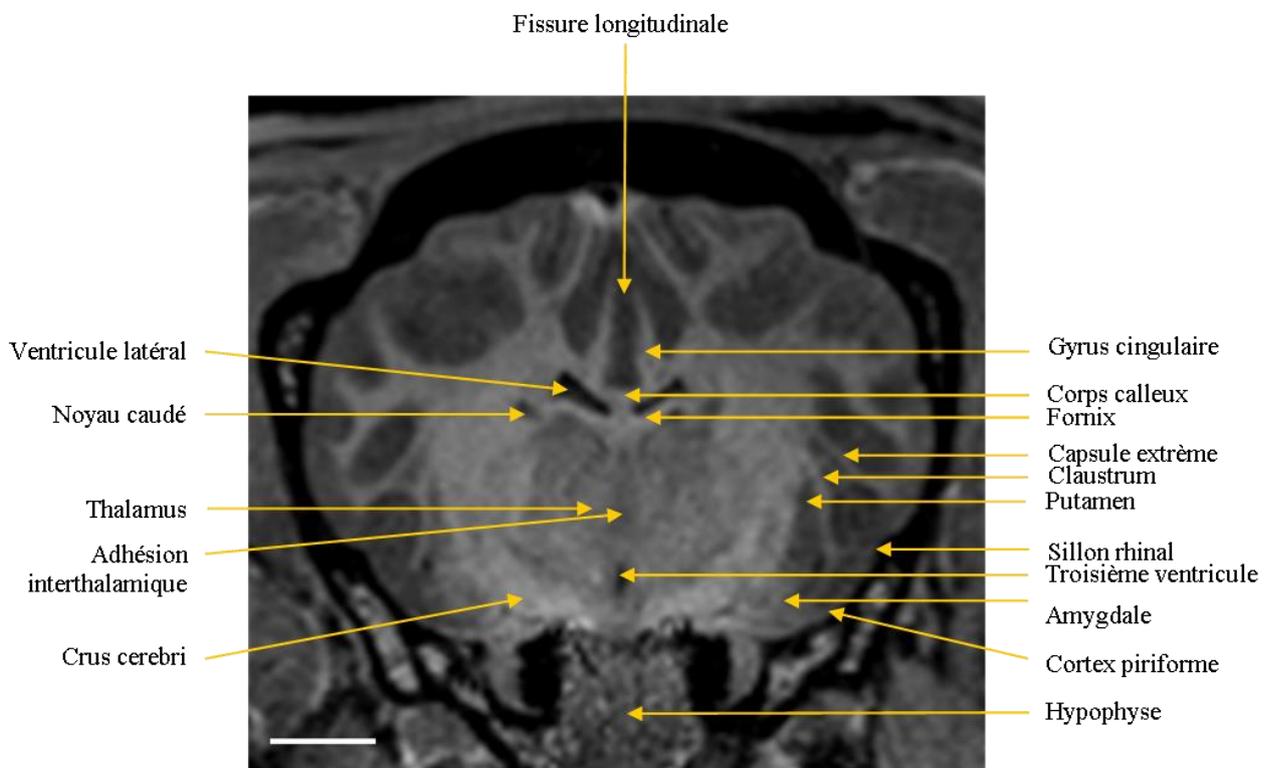


Figure 50. Niveau K – Coupe transversale pondérée en T1

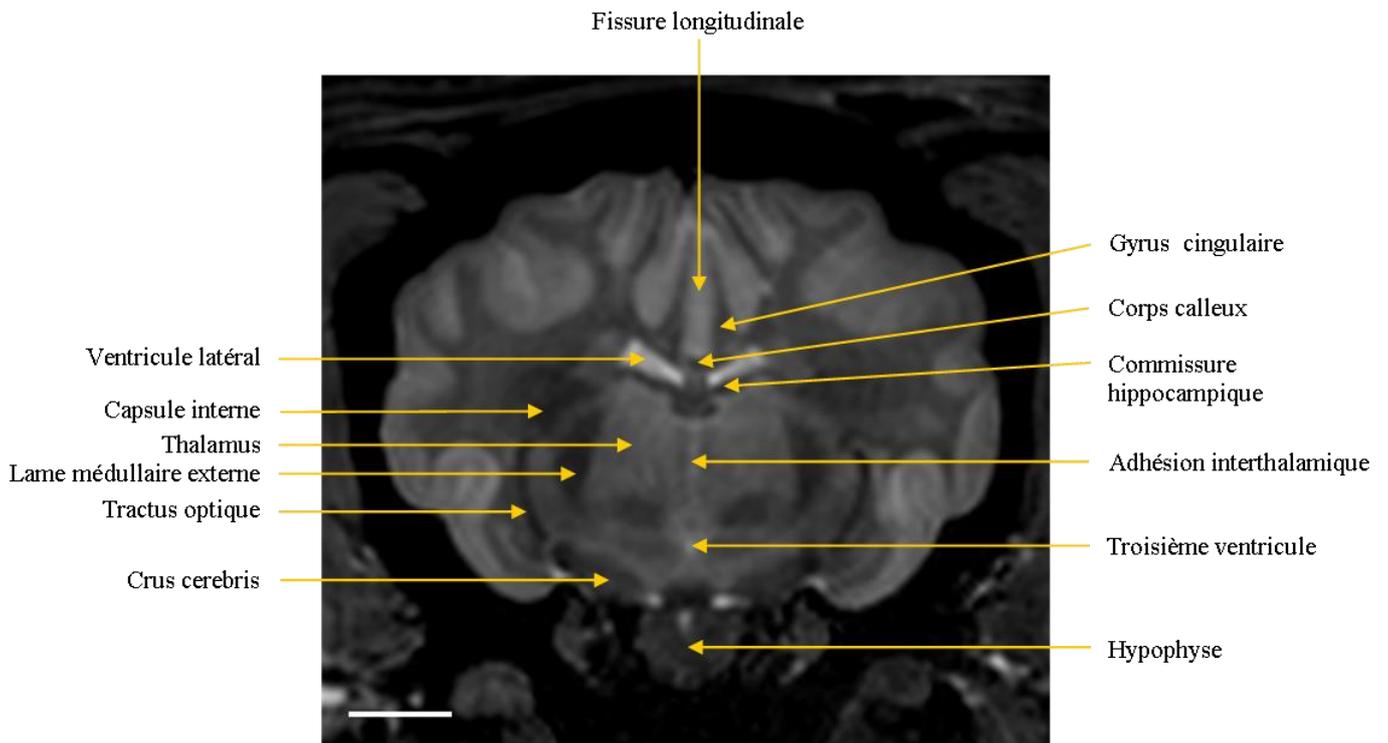


Figure 51. Niveau L – Coupe transversale pondérée en T2

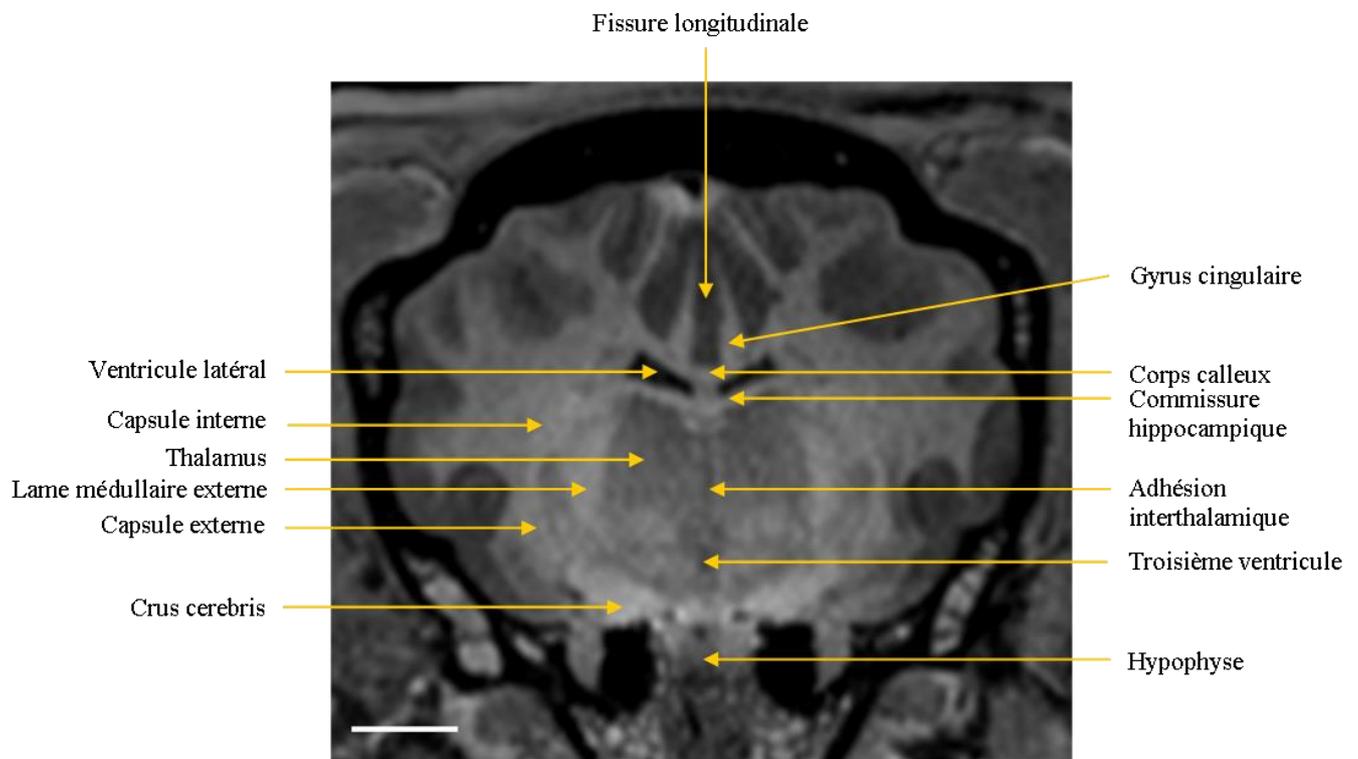


Figure 52. Niveau L – Coupe transversale pondérée en T1

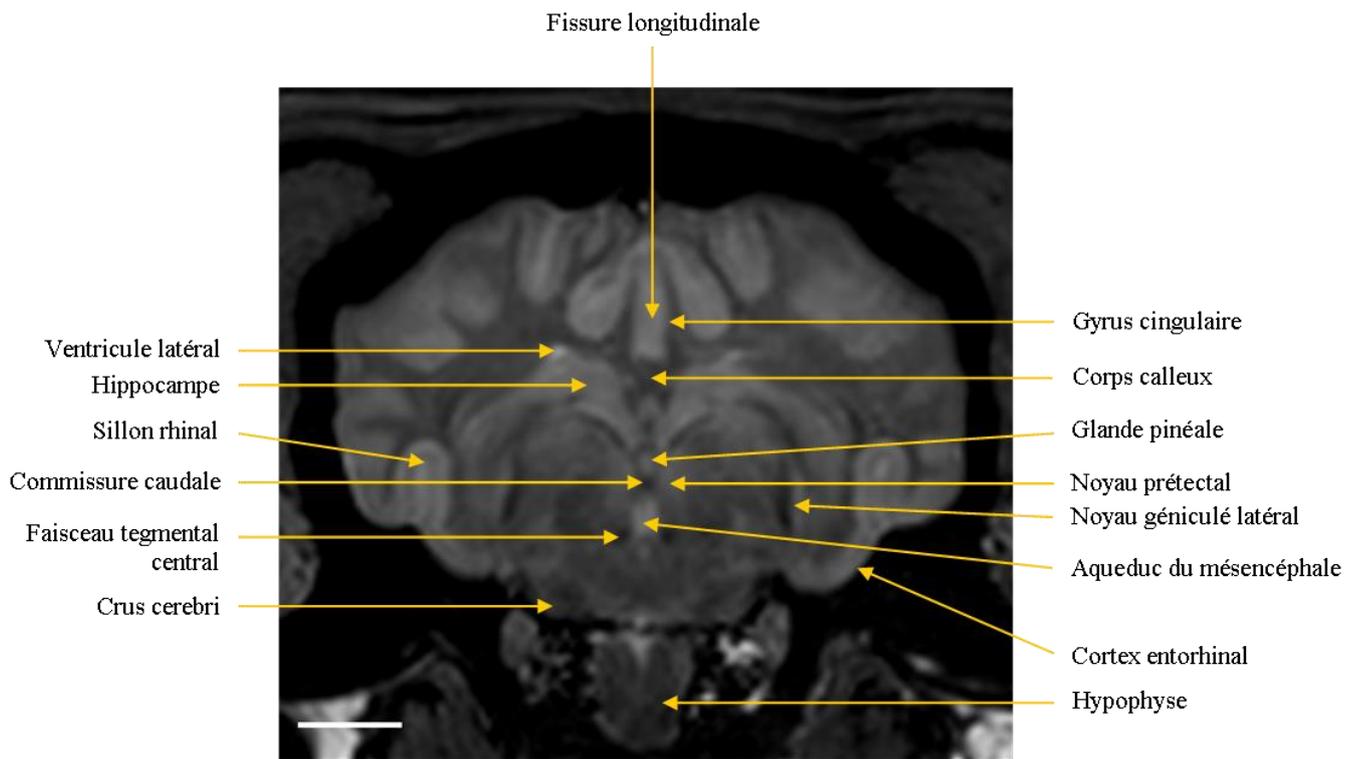


Figure 53. Niveau M – Coupe transversale pondérée en T2

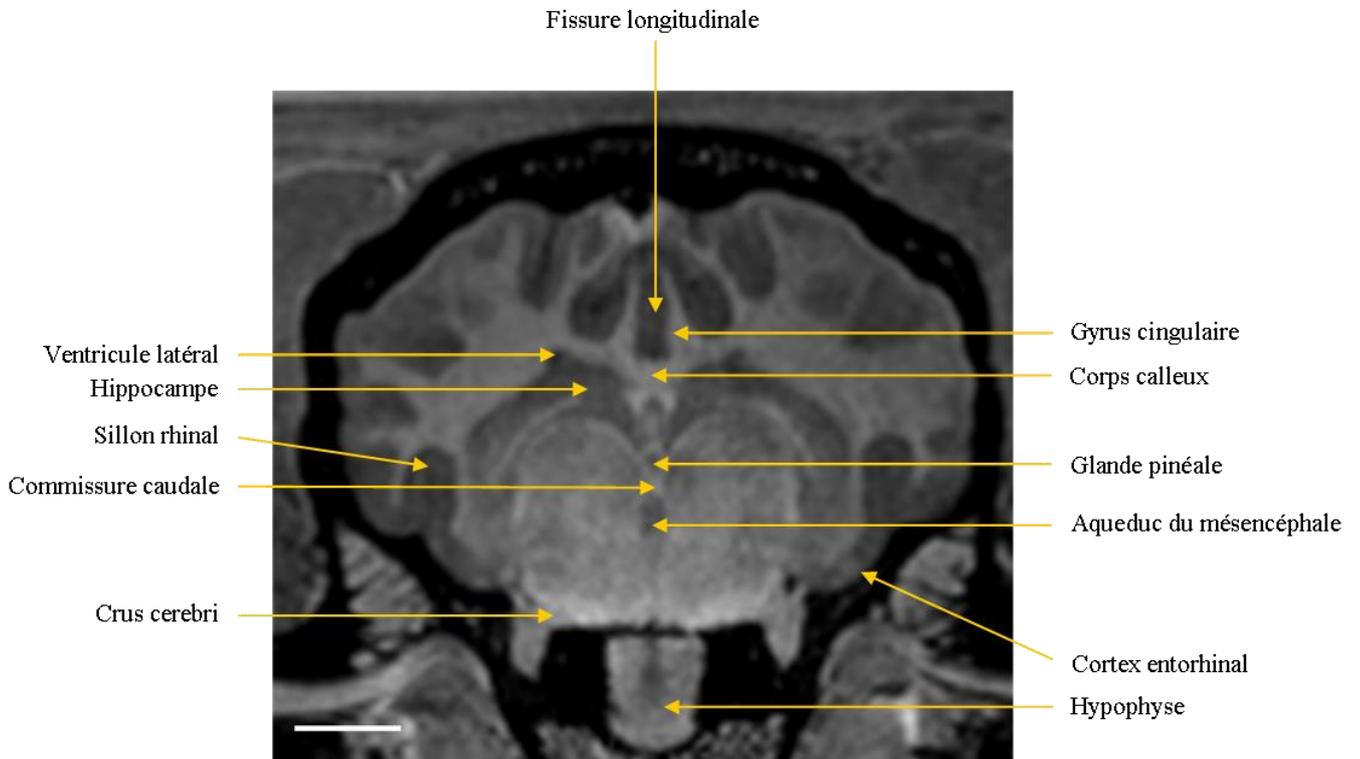


Figure 54. Niveau M – Coupe transversale pondérée en T1

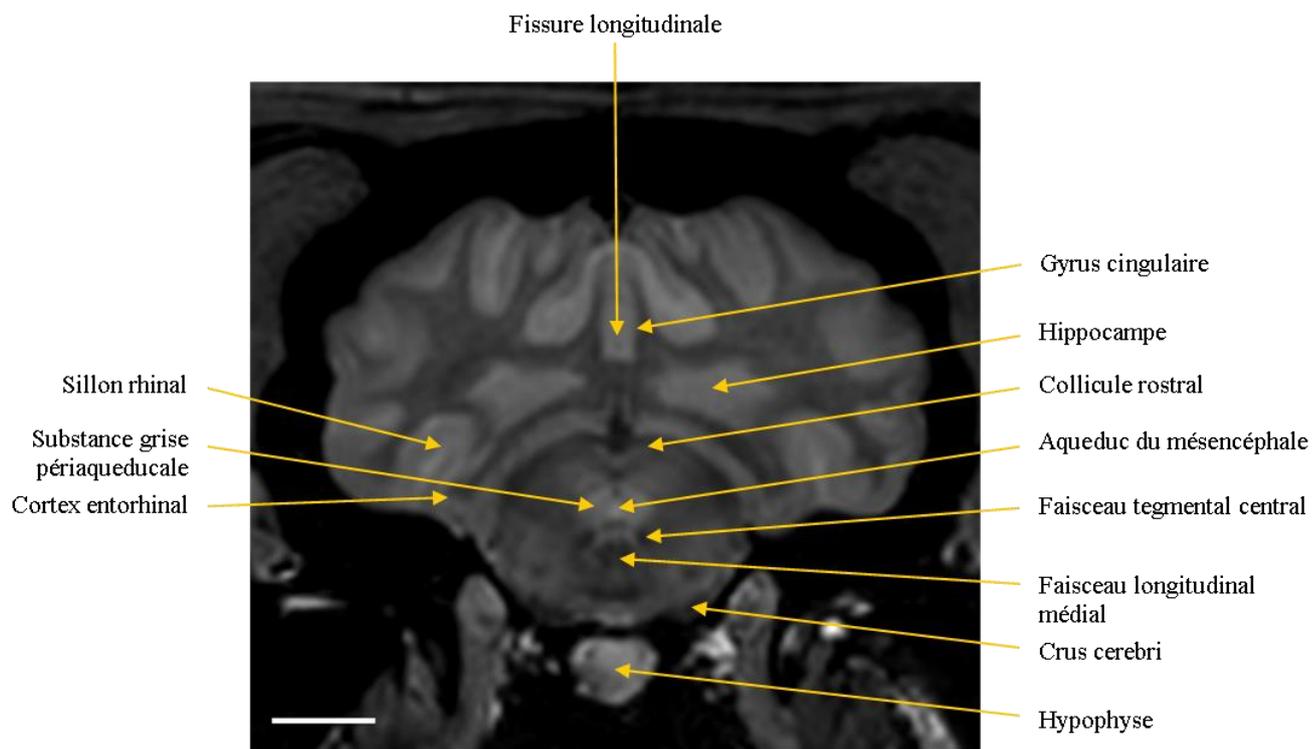


Figure 55. Niveau N – Coupe transversale pondérée en T2

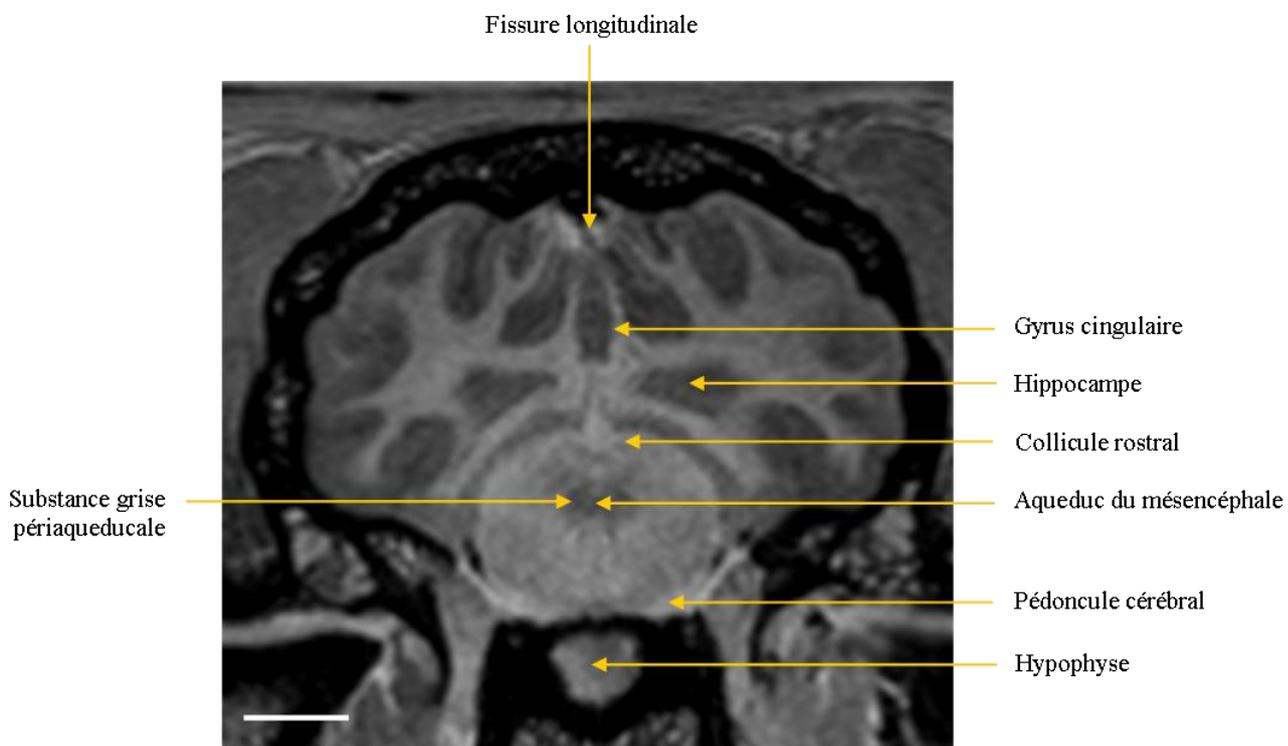


Figure 56. Niveau N – Coupe transversale pondérée en T1

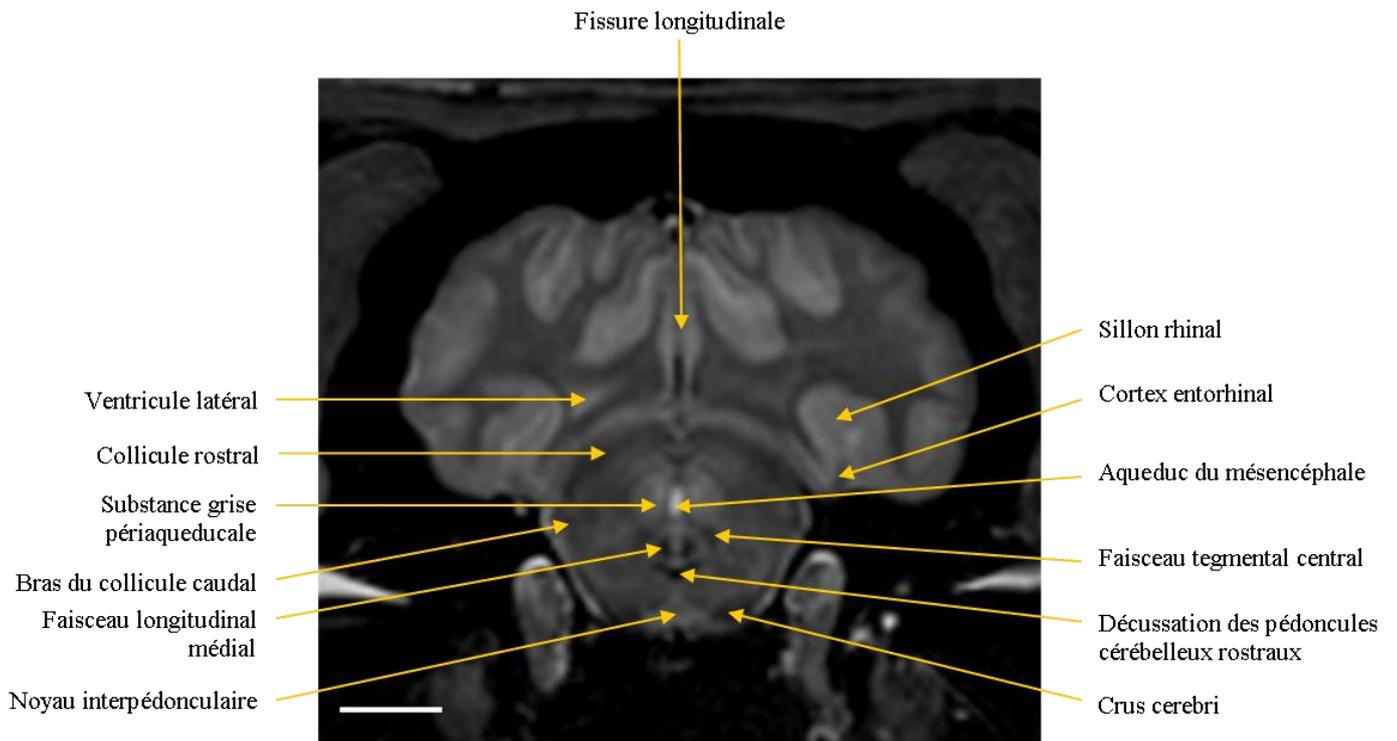


Figure 57. Niveau O – Coupe transversale pondérée en T2

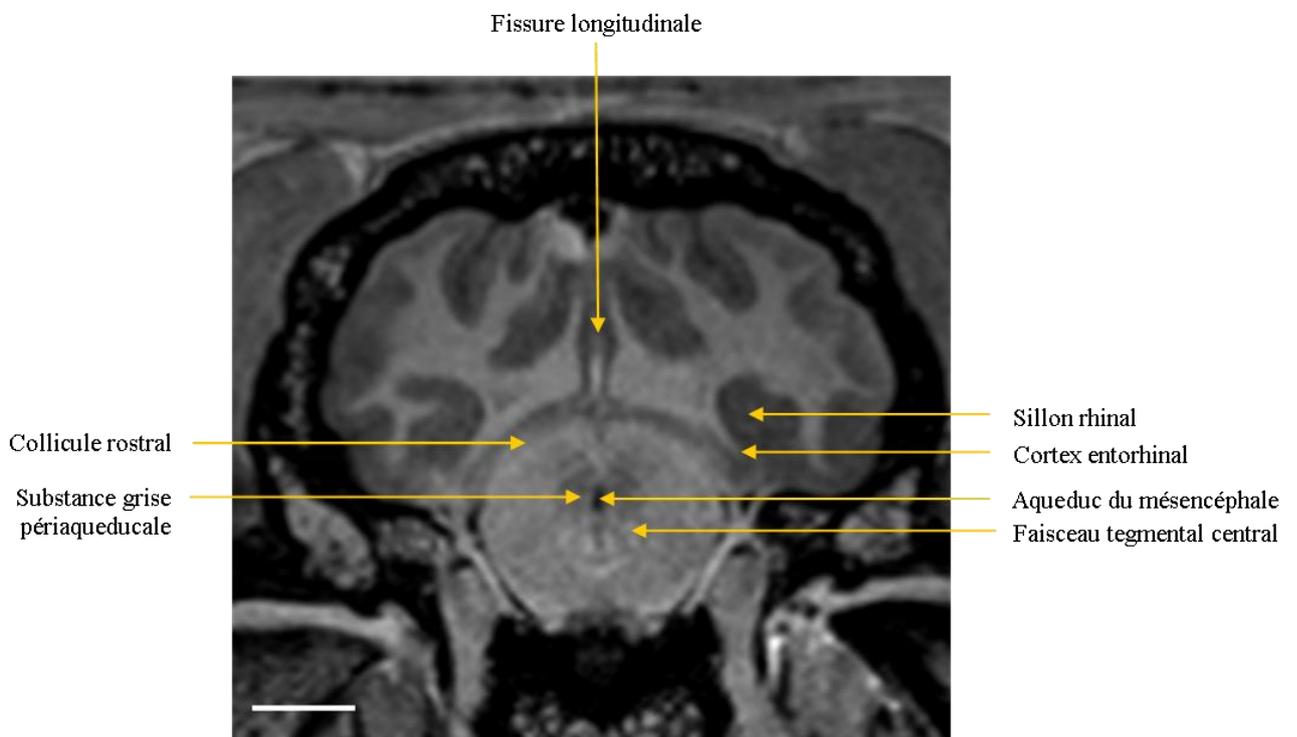


Figure 58. Niveau O – Coupe transversale pondérée en T1

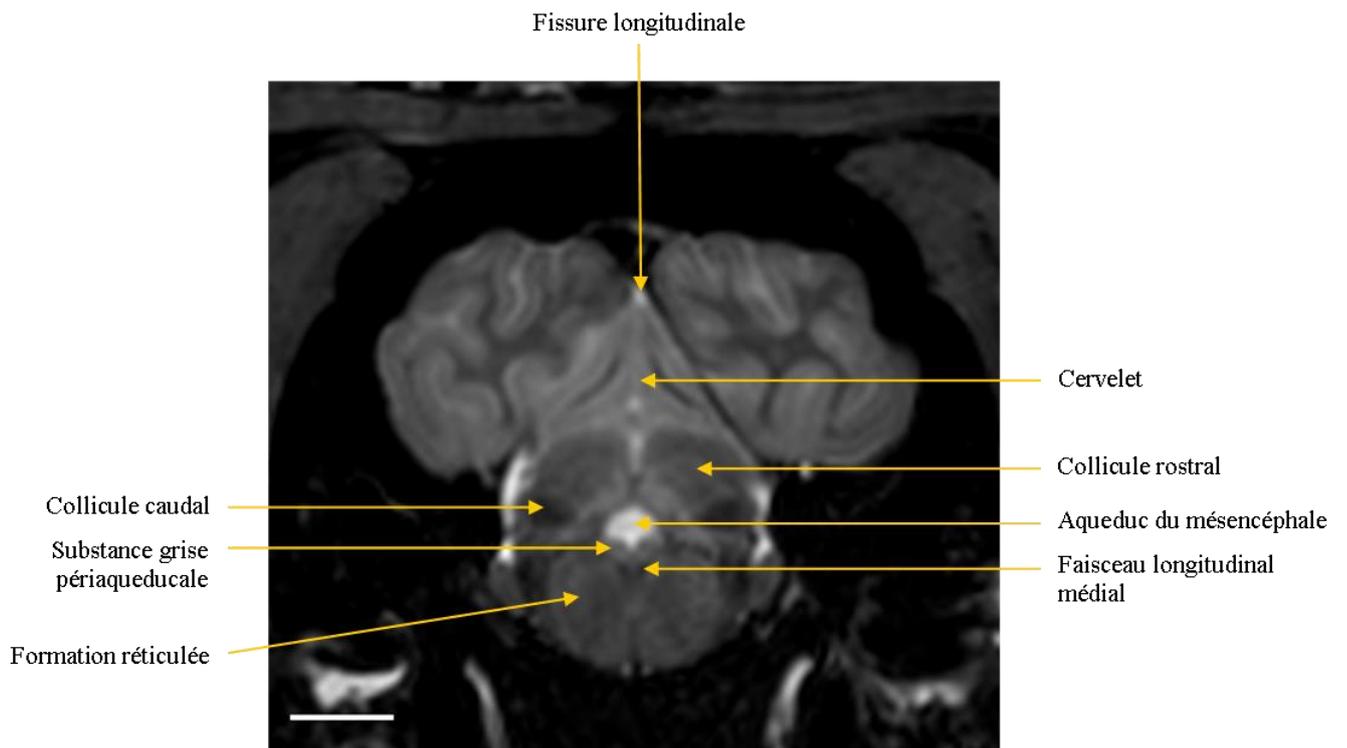


Figure 59. Niveau P – Coupe transversale pondérée en T2

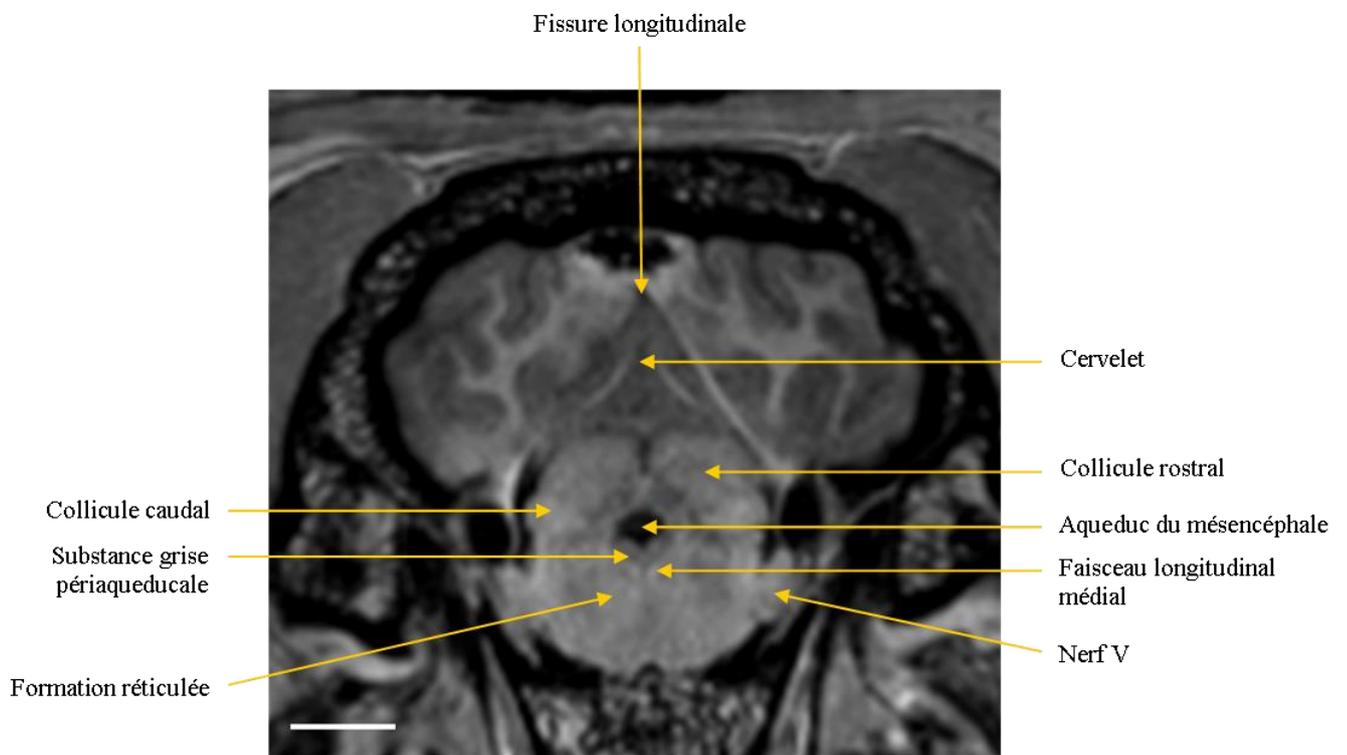


Figure 60. Niveau P – Coupe transversale pondérée en T1

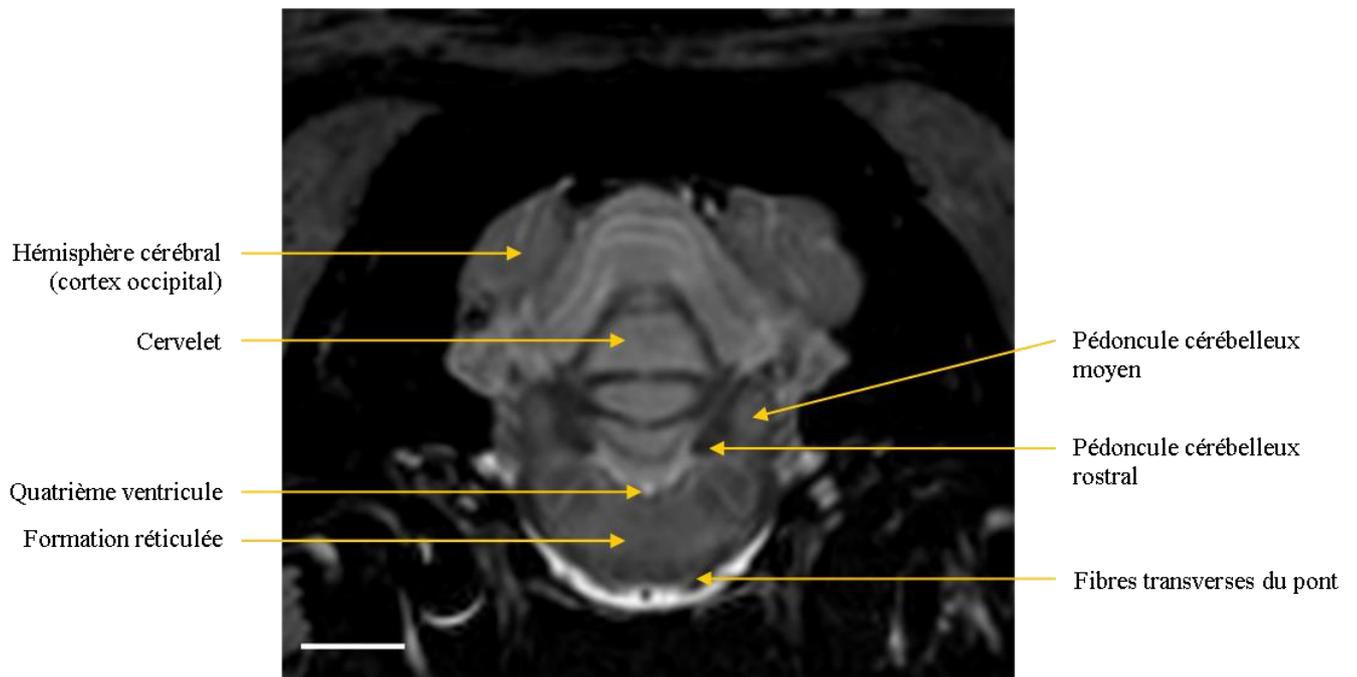


Figure 61. Niveau Q – Coupe transversale pondérée en T2

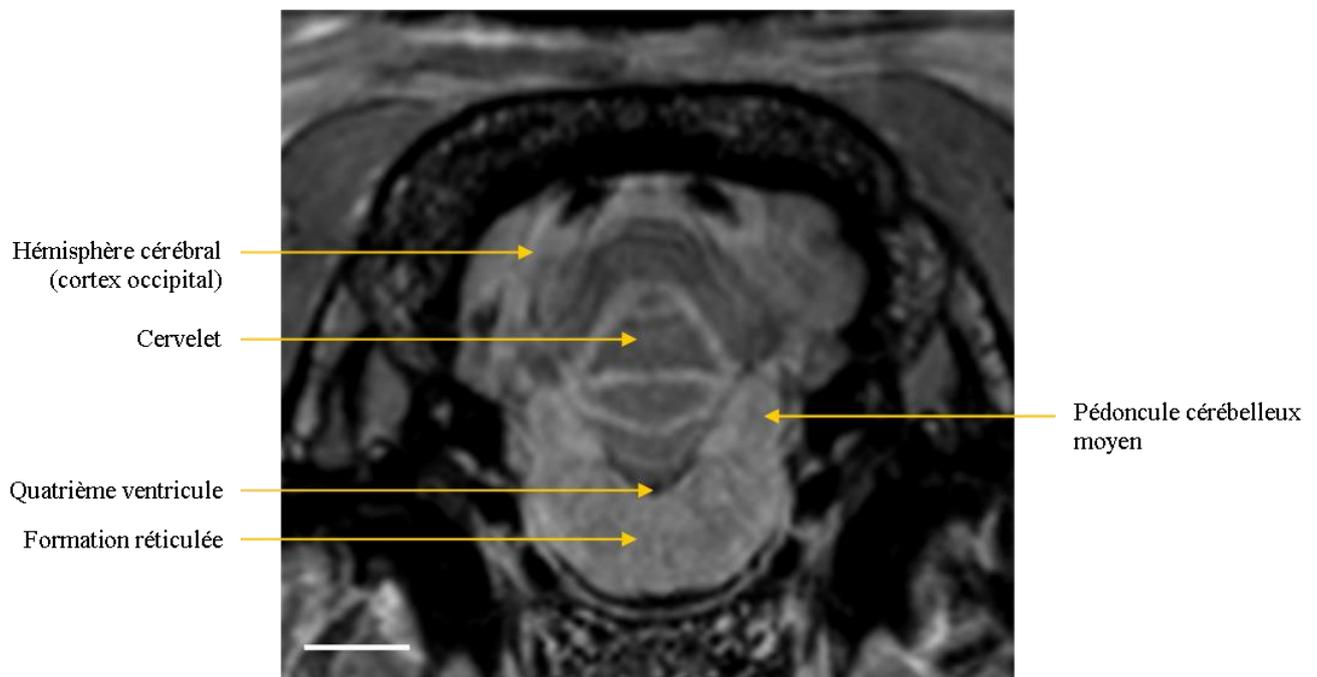


Figure 62. Niveau Q – Coupe transversale pondérée en T1

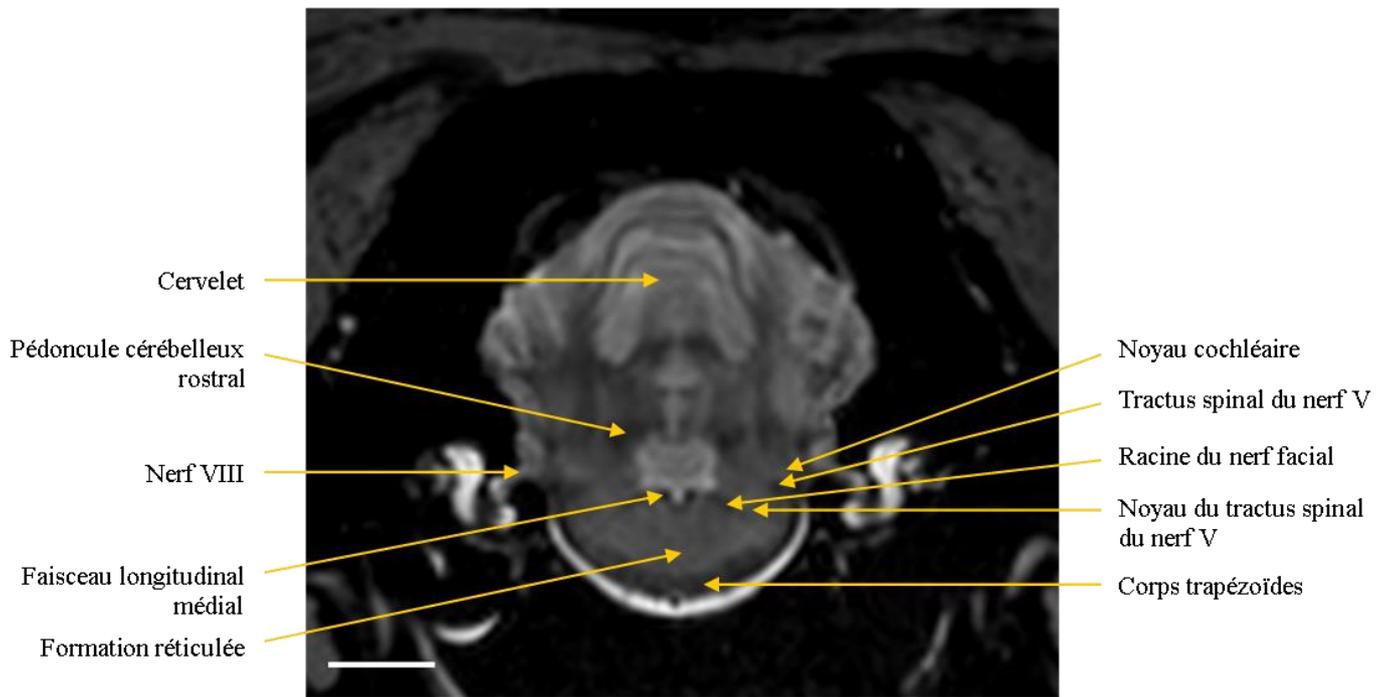


Figure 63. Niveau R – Coupe transversale pondérée en T2

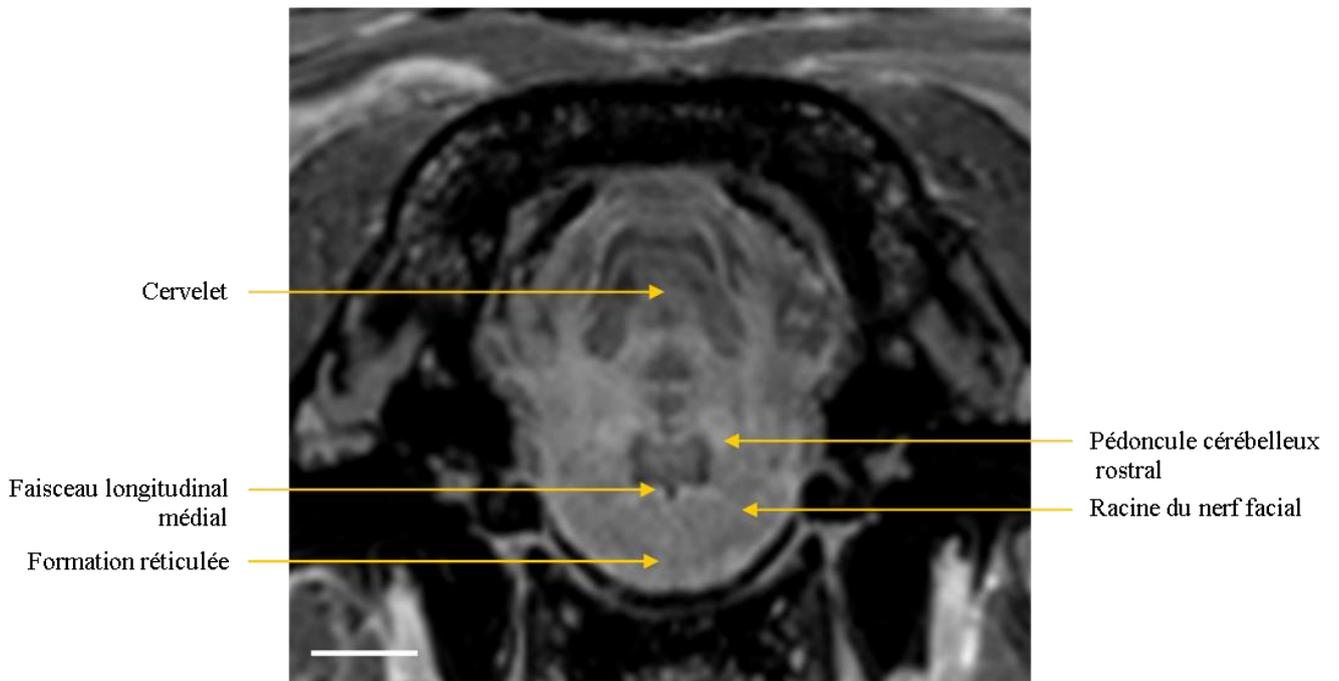


Figure 64. Niveau R – Coupe transversale pondérée en T1

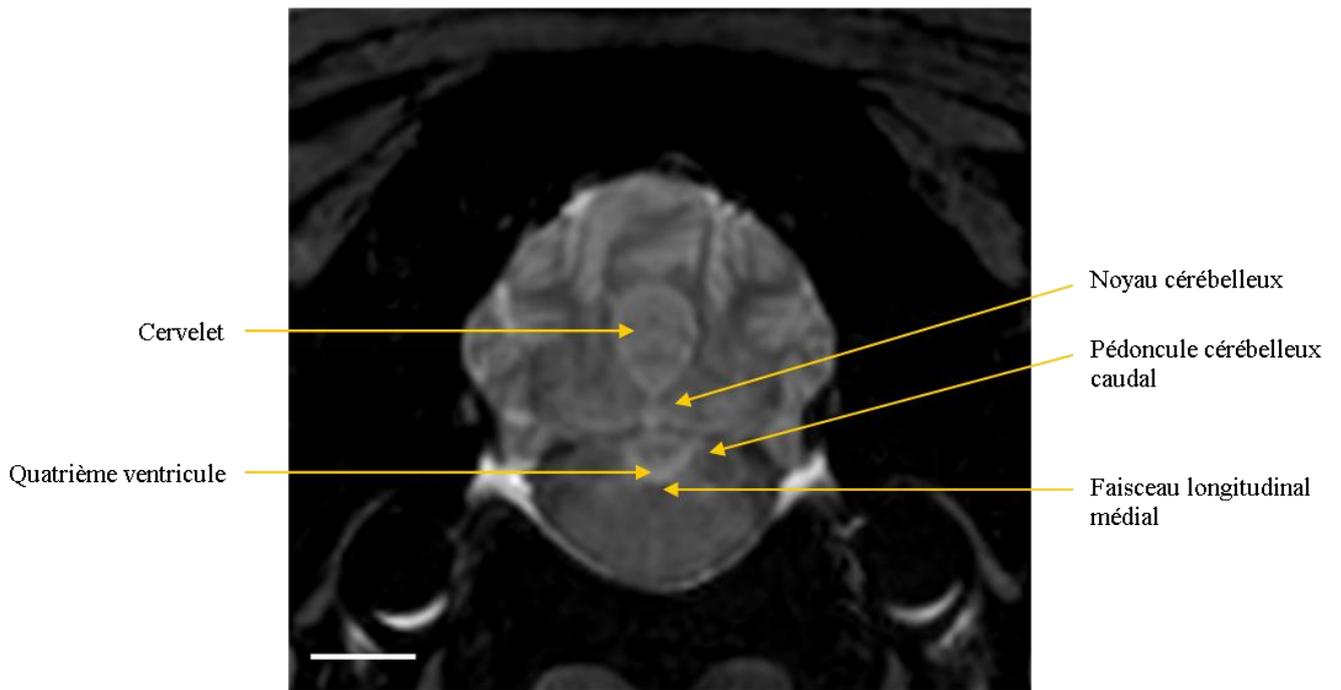


Figure 65. Niveau S – Coupe transversale pondérée en T2

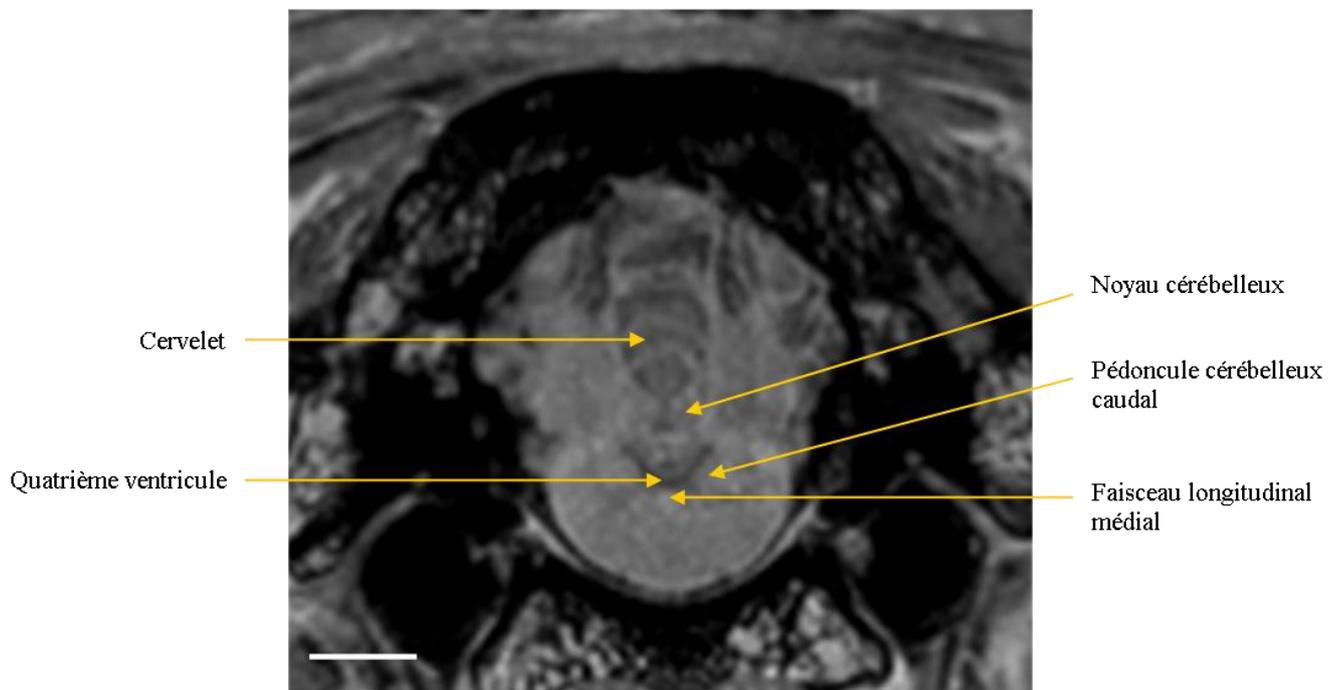


Figure 66. Niveau S – Coupe transversale pondérée en T1

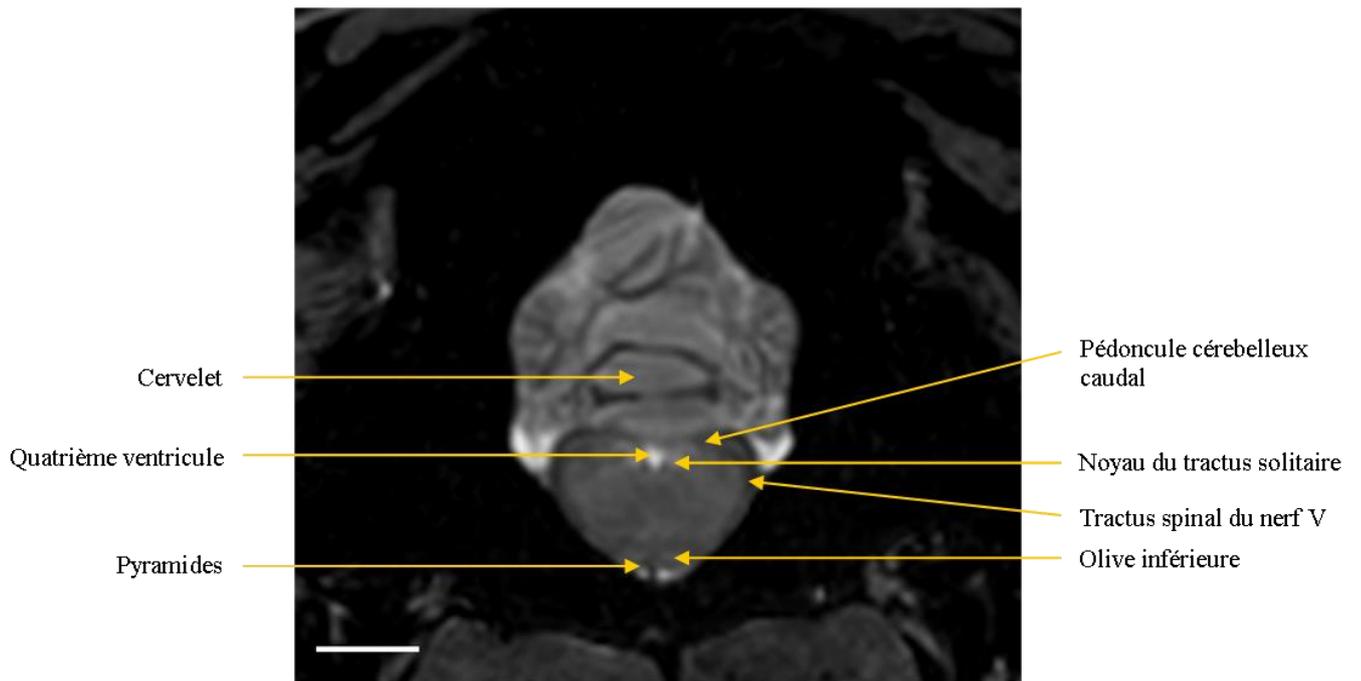


Figure 67. Niveau T – Coupe transversale pondérée en T2

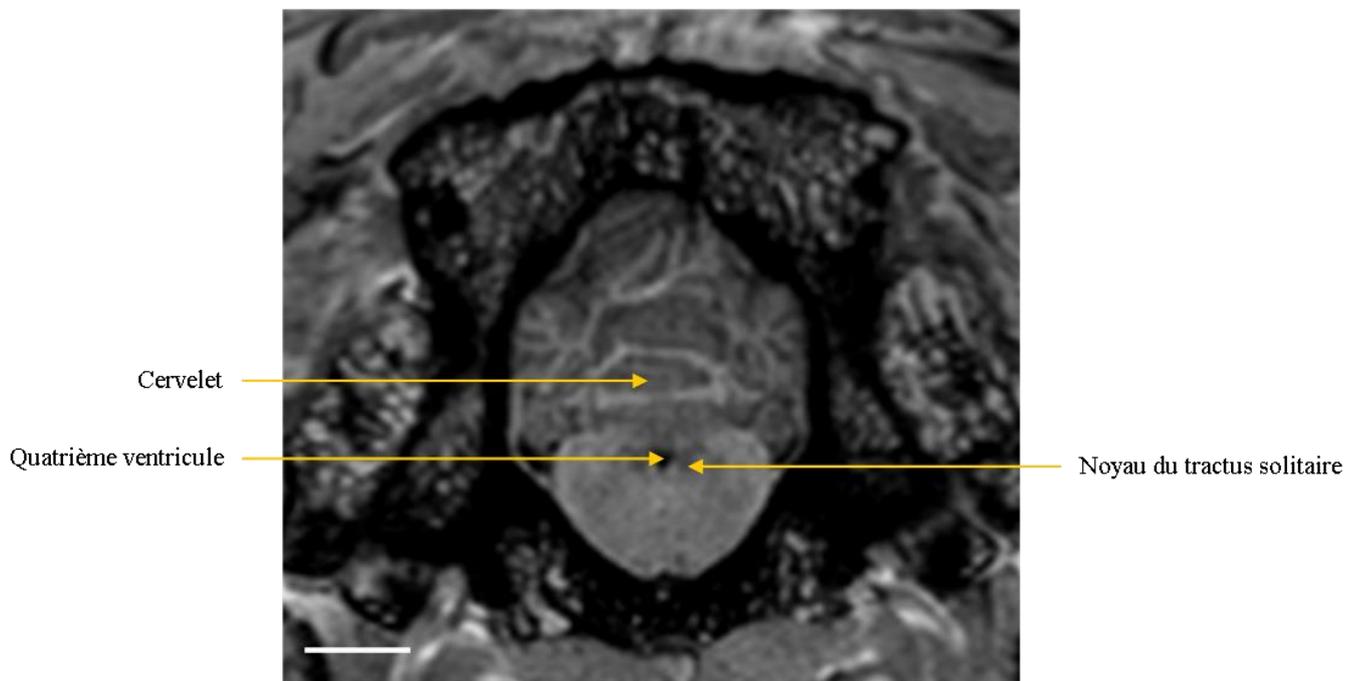


Figure 68. Niveau T – Coupe transversale pondérée en T1

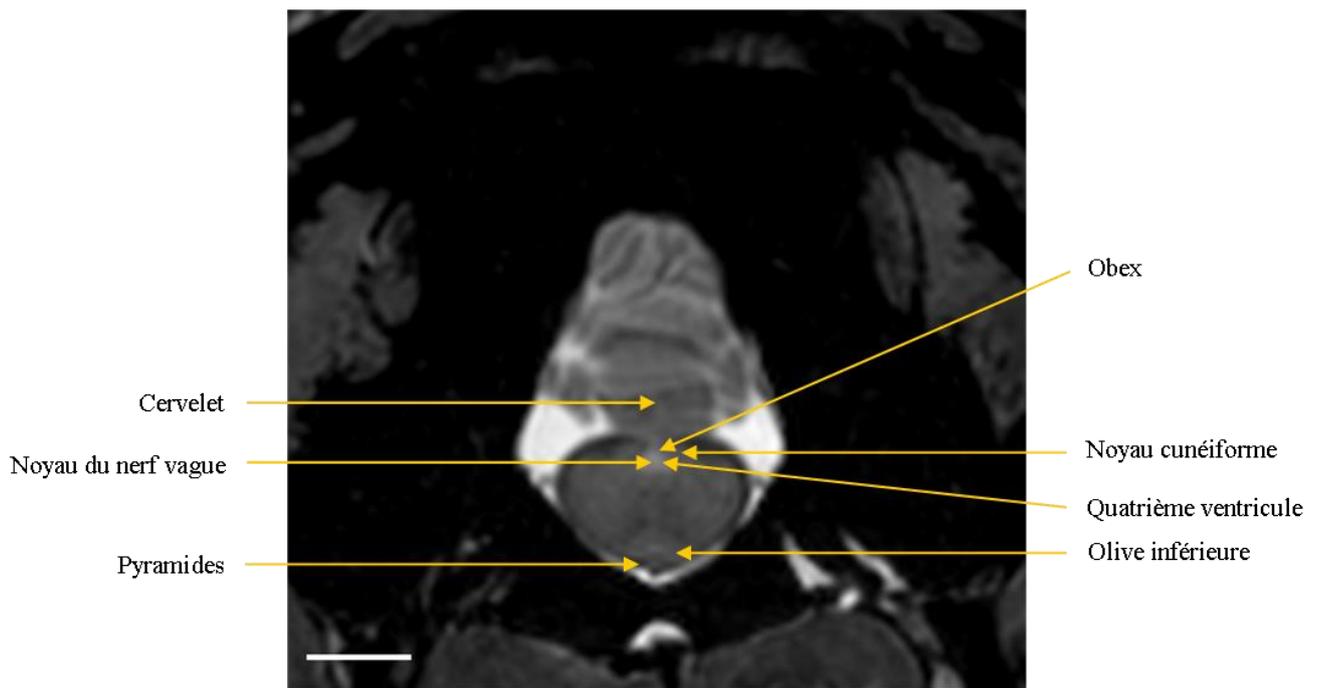


Figure 69. Niveau U – Coupe transversale pondérée en T2

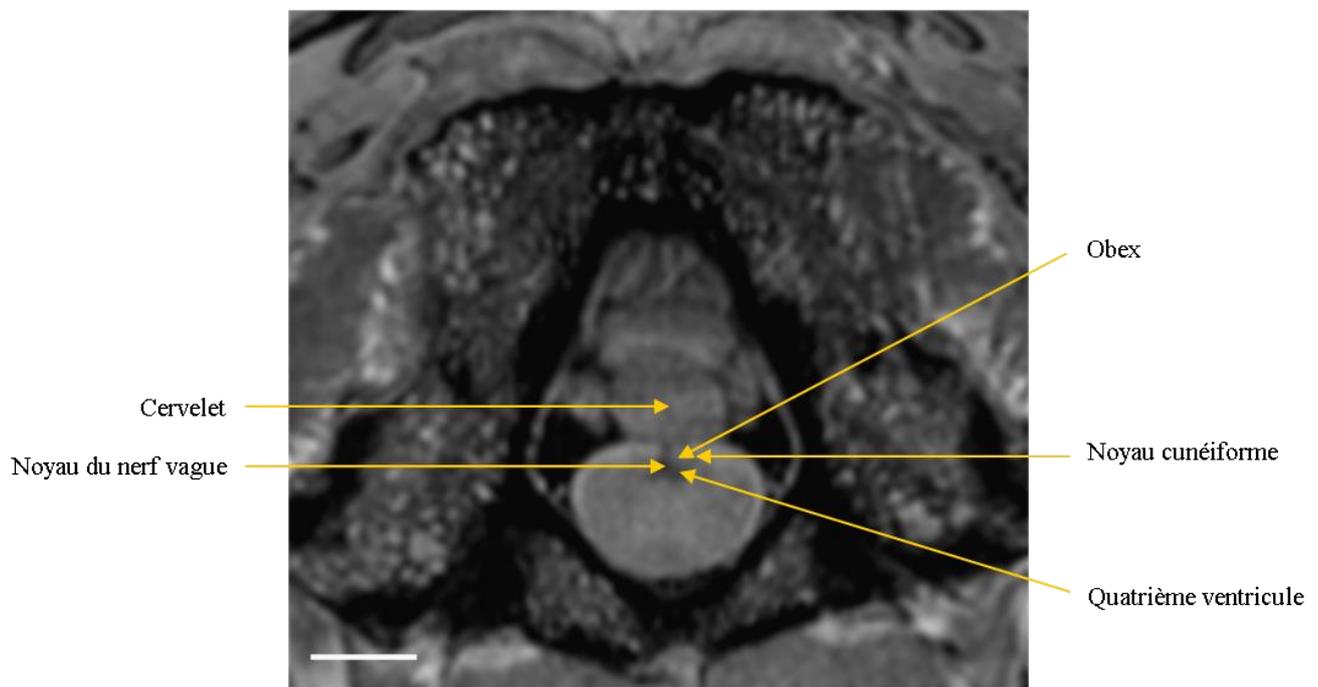


Figure 70. Niveau U – Coupe transversale pondérée en T1

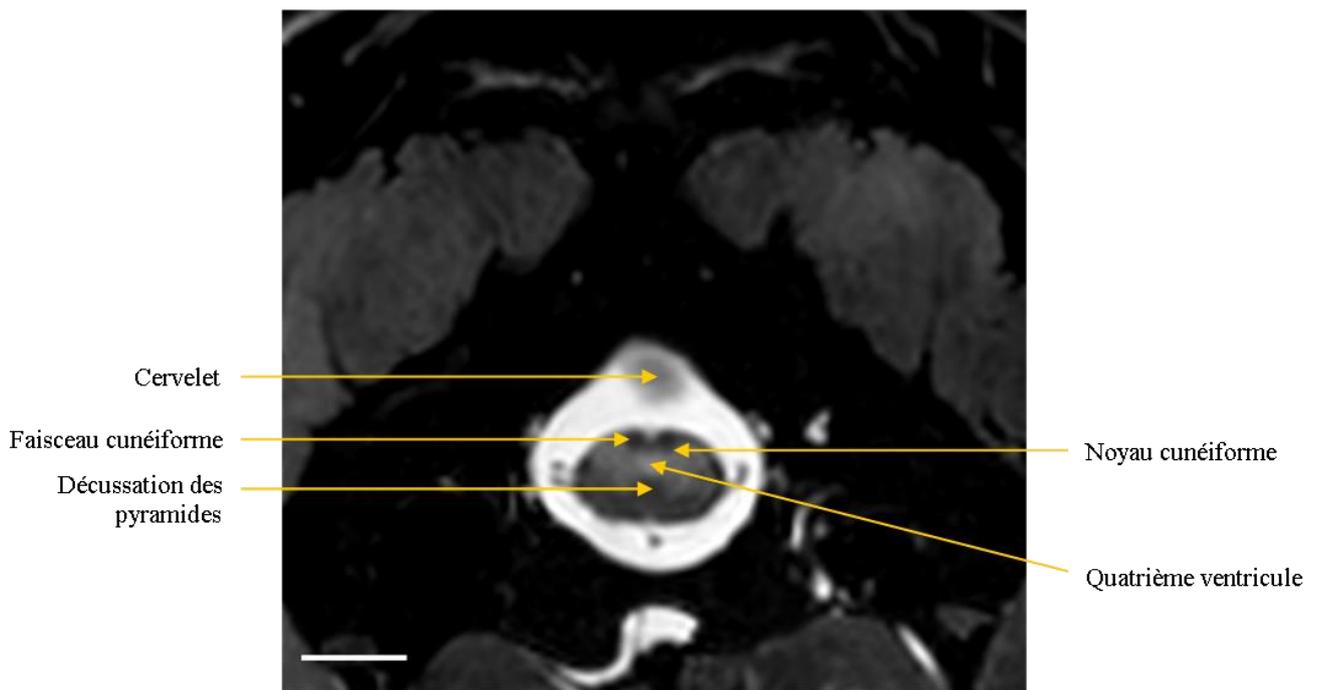


Figure 71. Niveau V – Coupe transversale pondérée en T2

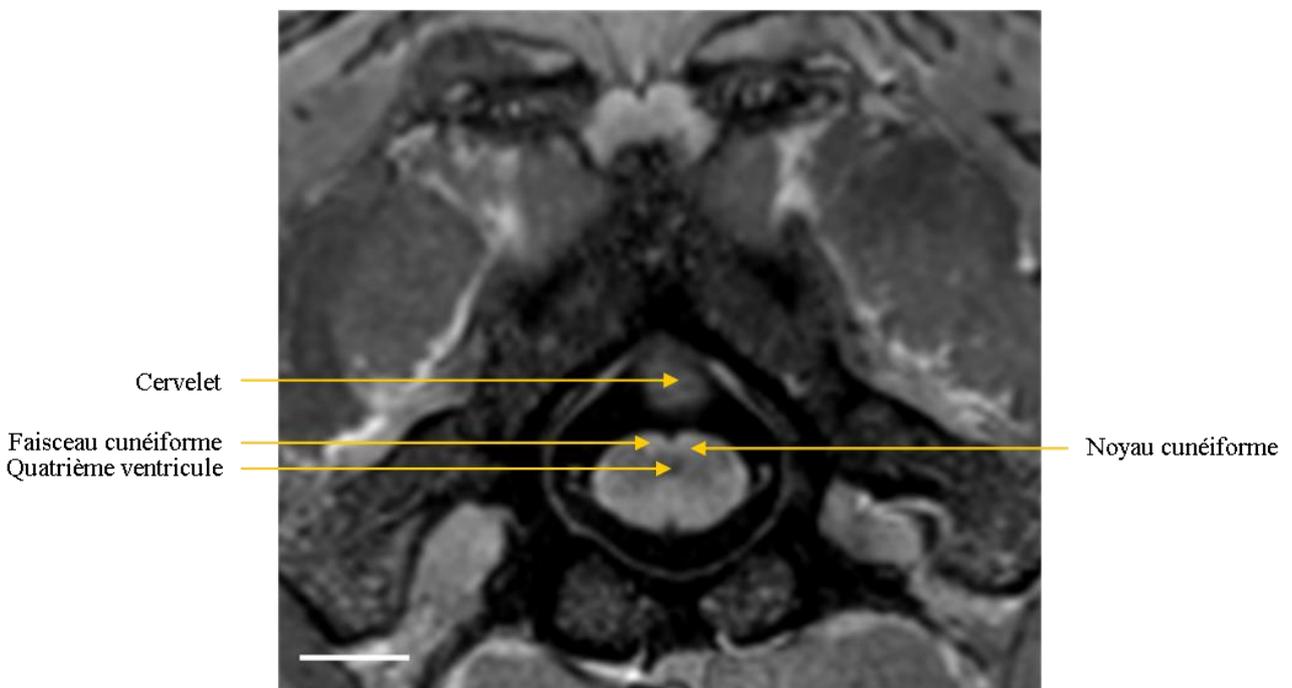


Figure 72. Niveau V – Coupe transversale pondérée en T1

2.1.4 Coupes dorsales

Les coupes dorsales ont été réalisées sur des images en pondération T2. Quatre coupes ont été sélectionnées de la position dorsale à la position ventrale.

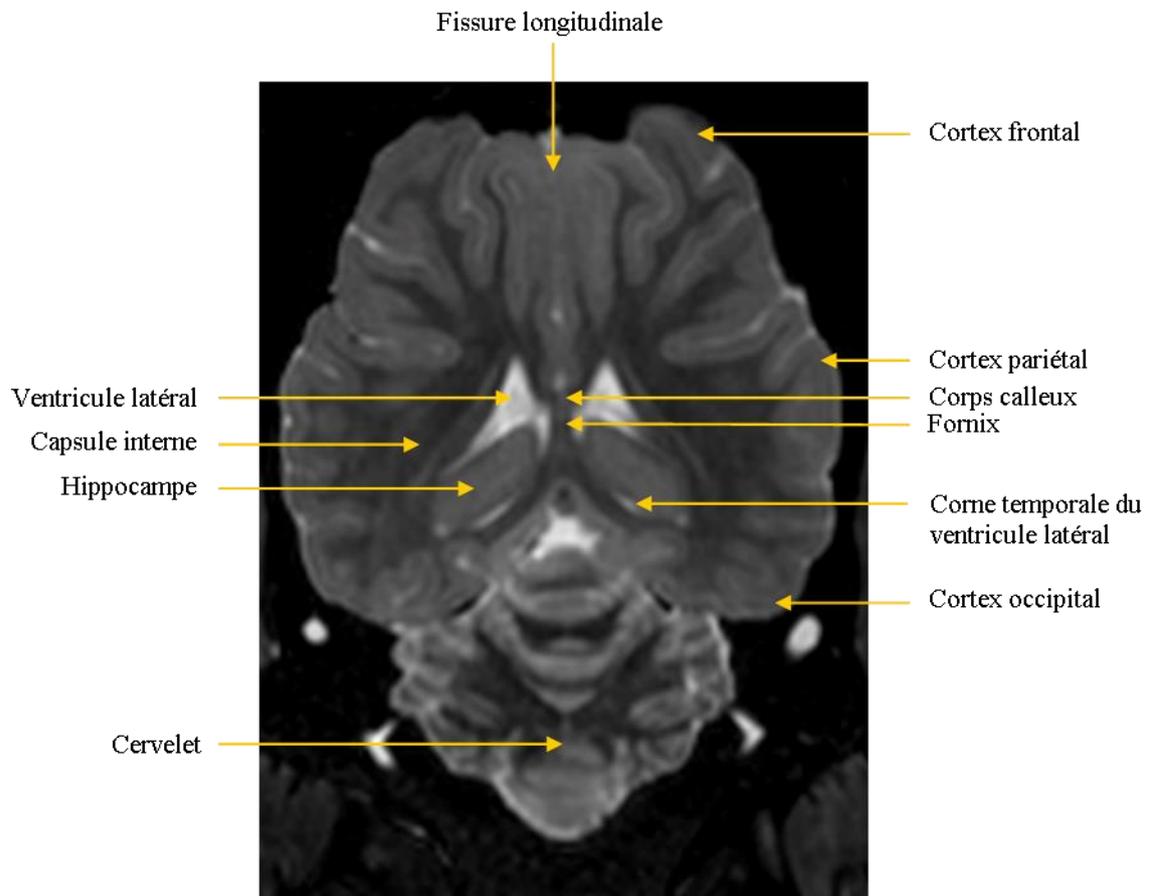


Figure 73. Niveau W - Coupe dorsale pondérée en T2

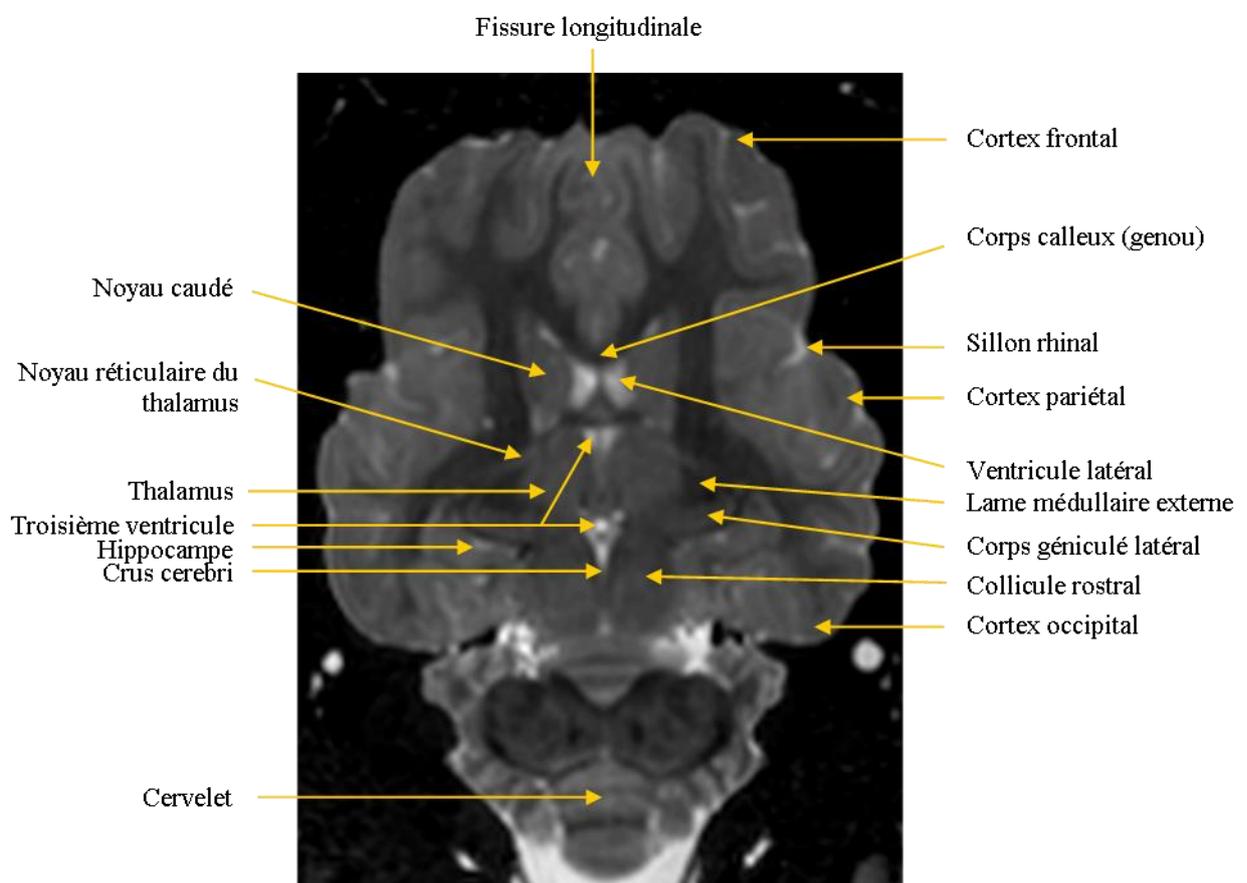


Figure 74. Niveau X - Coupe dorsale pondérée en T2

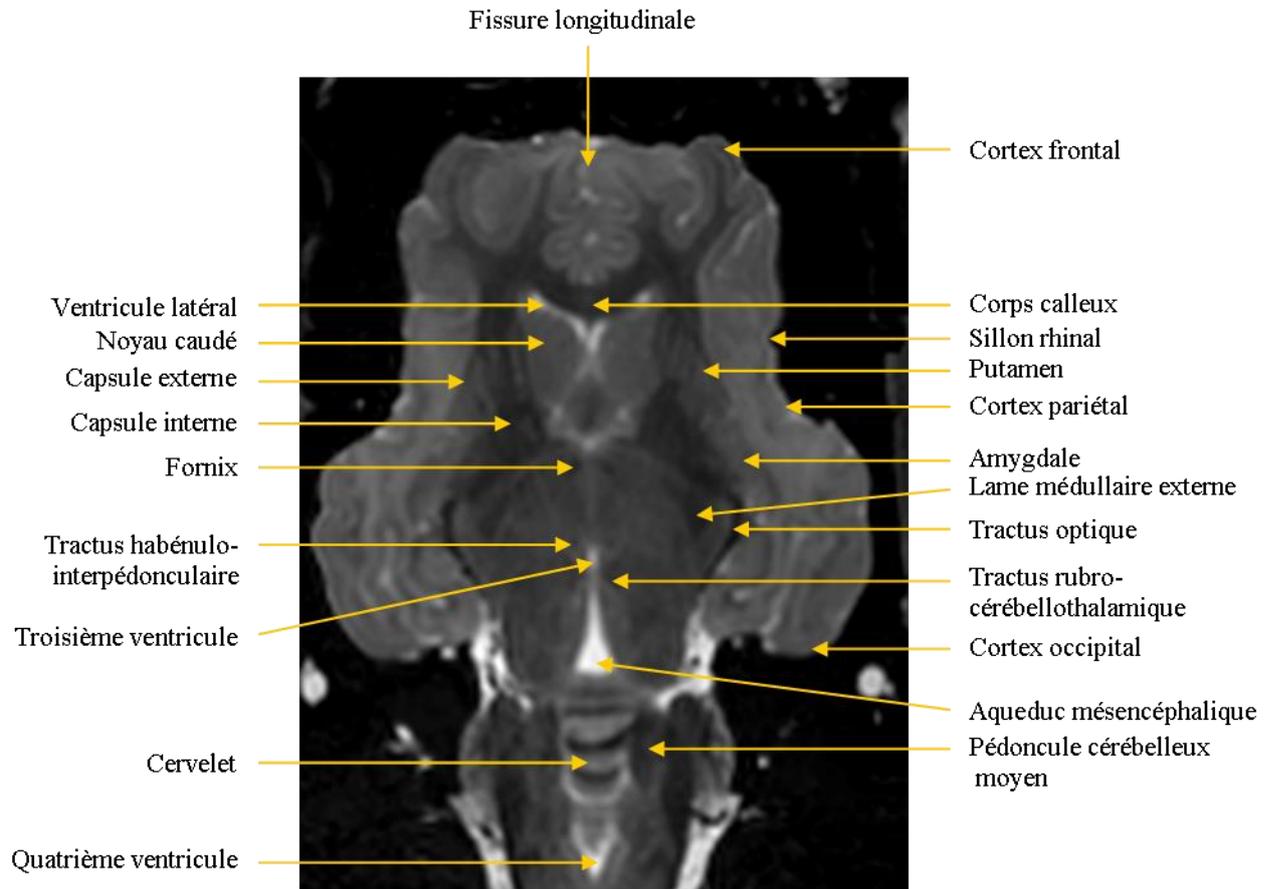


Figure 75. Niveau Y - Coupe dorsale pondérée en T2

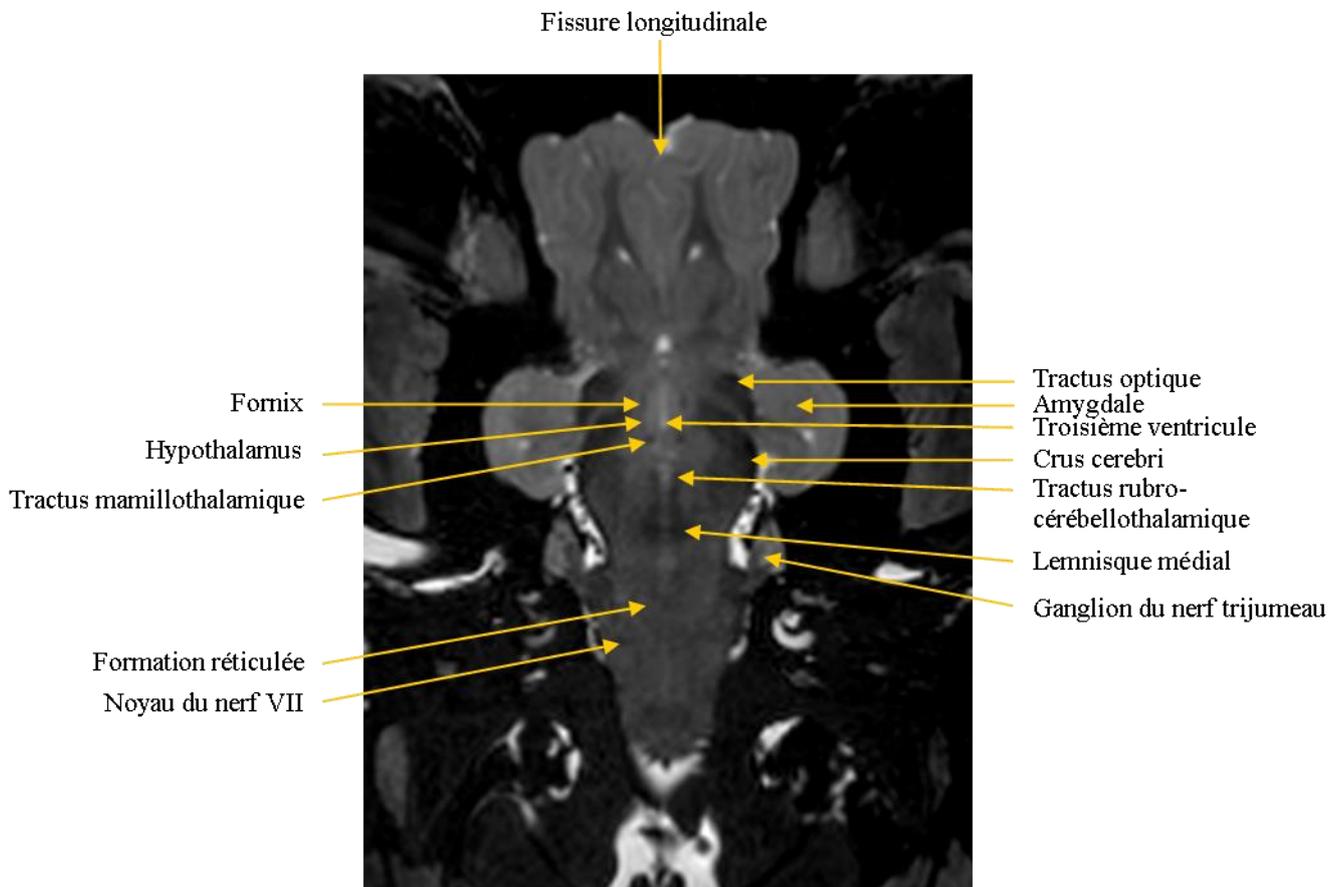


Figure 76. Niveau Z - Coupe dorsale pondérée en T2

2.2 FA et MD

La FA et la MD ont été calculées dans les 4 ROIs de chaque hémisphère cérébral.

Tableau 7. Valeurs moyennes par ROI de la FA et de la MD.

| Moutons (n=4) | | FA | MD (mm ² / s × 10 ⁻³) |
|--------------------|--------|----------------------|--|
| Région | | Moyenne ± Ecart type | Moyenne ± Ecart type |
| Hippocampe | Droit | 0,16 ± 0,05 | 0,24 ± 0,06 |
| | Gauche | 0,15 ± 0,02 | 0,22 ± 0,03 |
| Noyau caudé | Droit | 0,20 ± 0,04 | 0,20 ± 0,03 |
| | Gauche | 0,19 ± 0,01 | 0,21 ± 0,02 |
| Pallidum | Droit | 0,51 ± 0,10 | 0,11 ± 0,03 |
| | Gauche | 0,51 ± 0,05 | 0,12 ± 0,02 |
| Putamen | Droit | 0,26 ± 0,08 | 0,16 ± 0,02 |
| | Gauche | 0,27 ± 0,10 | 0,17 ± 0,04 |

2.3 Tractographie

Nous souhaitons, en plus de l'analyse paramétrique, réaliser la tractographie du corps calleux, puisqu'à notre connaissance, cela n'a pas encore été réalisé *ex vivo*. La tractographie n'a pas pu être réalisée sur les individus de notre échantillon. La reconstruction du tenseur de diffusion a permis une exploitation correcte des cartes paramétriques de MD et FA, mais la présence de bruits et de distorsions a rendu la tractographie, dont les algorithmes sont plus sensibles que pour le calcul de FA ou MD, plus complexe à réaliser. L'obtention de la tractographie demande des étapes de prétraitements supplémentaires que nous n'avons pu réaliser.

DISCUSSION

Tout d'abord modèle dans les sciences vétérinaires ou les productions animales, le Mouton est progressivement devenu un modèle pour des études fondamentales. En effet, le modèle ovin est une référence pour l'étude des régulations physiologiques et endocriniennes liées à la physiologie de la reproduction [146], [147], [148], [149] mais aussi un modèle précieux pour étudier les effets du développement précoce du cerveau et la différenciation sexuelle dans la vie adulte [30], [150]. Les Moutons sont également considérés comme un modèle pour certaines fonctions cérébrales et certains comportements qui se trouvent spécifiquement chez les primates supérieurs, tels que l'attachement social entre mère et sa progéniture à la naissance [151], [152], [153], [154]. Enfin, plus récemment, les ovins sont devenus un modèle essentiel dans la recherche préclinique ou translationnelle en lien avec certaines maladies neurodégénératives telles que les maladies de surcharge lysosomale comme les CLN [48] ou la maladie de Gaucher [67], [66], [155], la maladie de Huntington [26], [73] d'Alzheimer [156] ou encore les maladies à prion [94].

Compte tenu des caractéristiques spécifiques des ovins telles que leur taille et l'anatomie générale de leur cerveau, ce modèle est en passe de devenir une alternative aux modèles de primates, beaucoup plus complexes à utiliser, dans certains domaines spécifiques tels que les neurosciences.

Parallèlement, les études IRM de l'encéphale de Mouton, apparues il y a une dizaine d'années sont en plein essor et commencent à utiliser les techniques les plus poussées comme la DTI.

Dans ce contexte, le but de notre étude était d'évaluer la faisabilité de la DTI quantitative *ex vivo* dans cette espèce avec un scanner IRM 3 Tesla. A cette fin, nous souhaitons réaliser un atlas IRM 2D d'encéphale de Mouton afin d'identifier précisément les ROIs utilisées par la suite pour calculer la FA et la MD dans ces régions.

Notre étude a permis i) la réalisation d'un atlas *ex vivo* précis et de qualité de l'encéphale de Mouton en pondération T1 et T2, ii) d'identifier et de contourer manuellement 8 ROIs (Noyau caudé, Putamen, Hippocampe et Pallidum séparés suivant leur hémisphère), iii) d'établir des valeurs de FA et MD de référence sur un modèle ovin sain *ex vivo*.

Acquisitions T1 et T2 *ex vivo*

Les images IRM obtenues avec les séquences pondérées en T1 et en T2 sont adaptées à l'étude anatomique du cerveau et offrent des contrastes d'images différents et complémentaires. L'accès à des scanners IRM 3 Tesla est assez restreint pour ce type de modèle animal et les acquisitions souvent longues. Ainsi, réaliser nos acquisitions en *post-mortem* a permis de s'affranchir des contraintes liées à la disponibilité de l'IRM et à l'anesthésie.

Bien que l'acquisition *ex vivo* facilite grandement l'organisation des études, la mort et la fixation impactent significativement les propriétés magnétiques des tissus. En effet, les acquisitions de notre étude ont montré une dégradation à la fois du T1 et du T2 sur les 5 moutons, avec une dégradation plus marquée du T1. Ces résultats sont en corrélation avec les nombreuses études publiées précédemment [123], [124], [125], [126], [127], [128], [129], [130], [157], [158], montrant un raccourcissement de ces temps, mais parfois plus marqué sur le T2 [159].

Malgré la diminution du T1 et du T2, nous avons réussi à conserver, par la modification des paramètres d'acquisition (TE et TR), une bonne résolution spatiale et particulièrement sur les pondérations en T2. Ainsi, l'atlas réalisé sur l'encéphale d'un des moutons de l'étude a permis d'identifier plus de 80 structures dont certaines, très petites comme la commissure caudale ou encore le faisceau longitudinal médial ne sont pas toujours identifiables même sur des acquisitions *in vivo*.

Les paramètres des séquences mises au point dans cette étude peuvent donc être utilisés dans de futures études *ex vivo*, à condition de conserver les mêmes conditions que celles de notre étude concernant le temps écoulé entre la mort et la fixation, le type de fixation et le temps de fixation.

DTI : FA et MD

La FA et la MD sont des paramètres très utiles pour étudier la diffusion dans les tissus et donc évaluer l'intégrité des structures au sein de l'encéphale. Une augmentation de la MD indique que les tissus ne retiennent pas les molécules d'eau, probablement en raison d'un élargissement de l'espace extracellulaire, suggérant une dégénérescence des tissus [160]. La FA caractérise la distribution de l'orientation du mouvement aléatoire des molécules d'eau. L'anisotropie fait référence à une diffusion non uniforme des molécules d'eau dans les tissus. Plus la valeur FA est proche de 1, plus cette diffusion est anisotrope. À l'inverse, pour une

valeur de FA proche de 0, le mouvement des molécules d'eau est plutôt isotrope, suggérant un tissu endommagé au sein de la substance blanche [161]. Typiquement, les processus pathologiques qui modifient l'intégrité tissulaire, comme les maladies neurodégénératives, entraînent une augmentation de la diffusivité et une diminution de la FA [162]. Ces paramètres sont donc couramment utilisés en tant que biomarqueurs dans l'étude de certaines maladies neurologiques telles que l'épilepsie pharmaco-résistante [163], la maladie de Parkinson [164], la sclérose en plaque [140] ou encore la maladie d'Alzheimer [165]. Le calcul de la FA et de la MD est également très souvent utilisé pour mesurer la démyélinisation et la perte axonale en tant que signe d'altération de la substance blanche (très anisotrope) [166]. Mais ces indices peuvent également être utilisés pour rechercher spécifiquement une atteinte microstructurelle ou une atrophie neuronale dans la substance grise. A ce titre, la FA et la MD ont d'ailleurs été calculées au sein de plusieurs ROIs dans le cadre d'études de la MCJ [103], [167].

Pour le modèle ovin, il n'existe à notre connaissance aucune étude ayant établi des valeurs de référence de FA et de MD sur nos régions d'intérêt ni *ex ni in vivo*, nous n'avons donc pas de base de comparaison. Il est de toute façon difficile de comparer les valeurs de MD et FA avec celles de la littérature établies chez l'Homme car celles-ci varient, pour les mêmes ROIs, d'une étude à l'autre selon le type de scanners utilisé [167], [168], [169], [170], [171]. Concernant les valeurs de FA, il semble toutefois possible de dégager une tendance en étudiant les données de la littérature: dans les quelques études ayant publié les valeurs de FA des noyaux de la base chez des patients humains sains, celles du pallidum sont supérieures de 33 à 71% à celles du putamen, elles-mêmes supérieures de 0 à 30 % à celles du noyau caudé; les valeurs variant de 0,12 à 0,48. [169], [170], [171]. Dans notre étude, nous retrouvons effectivement une valeur de FA dans le pallidum supérieure de 96% à celle du putamen, elle-même supérieure de 36% à celle du noyau caudé; les valeurs de FA variant de 0,19 à 0,51. Les valeurs de MD pour ces trois ROIs sont par contre très variables d'une étude à l'autre, s'échelonnant de 0,69 à 2,29 $\times 10^{-3}$ mm²/sec. Dans notre étude, les valeurs de MD pour ces trois ROIs sont beaucoup plus basses (maximum de 0,21 $\times 10^{-3}$ mm²/sec pour le noyau caudé). Ce résultat peut peut-être, entre autres, s'expliquer par notre procédé de fixation des tissus. En effet, comme nous l'avons étudié précédemment, la répercussion exacte de la mort et de la fixation sur les valeurs de FA et MD est mal connue et surtout est largement influencée par de nombreux facteurs tels que le temps entre la mort et la fixation, la méthode, le produit et le temps de fixation, le rinçage et la température de la pièce pendant les acquisitions [172]. Il est

donc particulièrement complexe d'établir des comparaisons et des règles lorsque les conditions d'étude ne sont pas exactement les mêmes.

Les valeurs de FA et MD que nous avons obtenues sur nos ROIs sont des références qui pourront être utilisées à l'avenir comme éléments de comparaison mais uniquement pour des études *post-mortem* ayant conservé les mêmes conditions que dans notre étude concernant le temps entre la mort et la fixation, la méthode de fixation, la durée de fixation, la méthode de rinçage et la température d'acquisition.

La qualité des images obtenues *ex vivo* dépend de plusieurs éléments tels que la qualité et la préparation de l'échantillon (le temps écoulé entre la mort et la fixation ainsi que le mode de fixation), la réalisation de séquences IRM adaptées à l'imagerie *ex vivo*, le temps d'acquisition (souvent long) et le scanner IRM utilisé. Tous ces éléments sont à prendre en compte lors de la réalisation d'étude *post-mortem*.

Tractographie

La DTT est un outil précieux pour l'étude des fibres de la substance blanche et des interconnexions au sein de l'encéphale. À notre connaissance, les seuls travaux sur la faisabilité de la DTI sur des ovins sains ont été réalisés *in vivo* par Lee et al. en 2015 [107]. Ils ont exploité l'IRM fonctionnelle (IRMf) pour visualiser le cortex sensorimoteur et visuel activé par des stimuli sensoriels externes, puis ont réalisé une tractographie par DTI pour reconstruire les radiations du tractus cortico-spinal et du tractus optique à partir des zones corticales activées en effectuant une analyse avec un seul sujet.

Très récemment, une étude effectuant une reconstruction complète des cinq principaux faisceaux de fibres de la substance blanche du cerveau ovin a permis de créer le premier atlas tractographique des ovins sains *in vivo*[16].

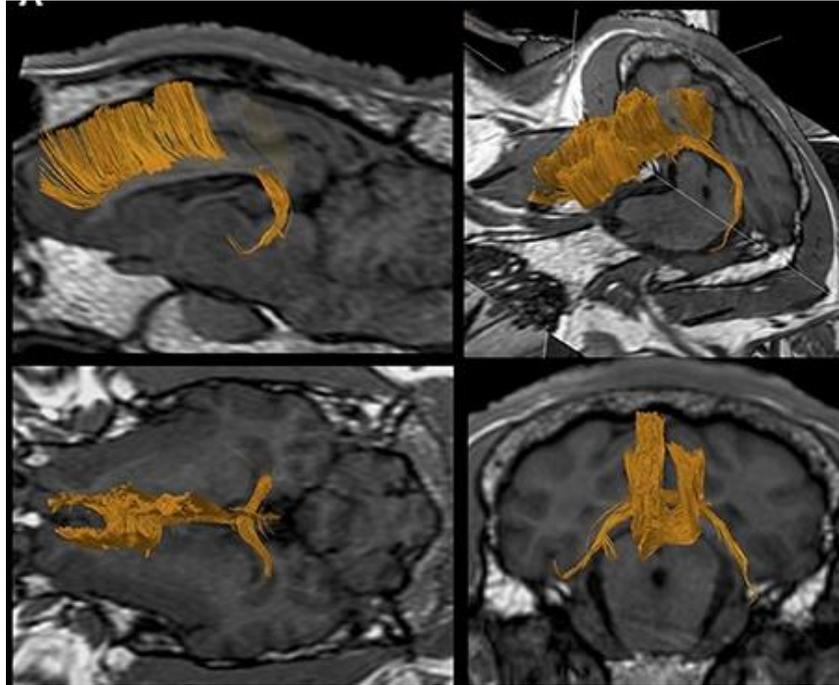


Figure 77. Tractographie *in vivo* du corps calleux d'un encéphale ovin recalée aux images anatomiques pondérées en T1[16].

A ce jour, la tractographie *ex vivo* des fibres de la SB n'a pas été réalisée sur des ovins mais elle a été obtenue sur plusieurs structures sur des encéphales humains [173].

Limites

L'accès à des scanners IRM pour des modèles animaux est restreint et demande une certaine organisation. De plus, notre étude portait sur des pièces *ex vivo*, nos acquisitions étaient donc longues. Ainsi, nous avons dû limiter la taille de notre échantillon à 5 moutons. Les images de l'un des individus n'étant pas exploitables, nos résultats n'ont été obtenus que sur un échantillon restreint de quatre moutons.

Perspectives

L'évaluation des caractéristiques structurelles de l'encéphale avec la DTI dans des modèles ovins *ex vivo* offre la possibilité de valider les informations issues de l'imagerie en les comparant immédiatement à des sections histologiques avec une corrélation spatiale précise. Ainsi, il est possible de valider les orientations des fibres de la SB directement après les acquisitions. L'étude *post-mortem* permet également, sur des individus malades, de valider

les anomalies observées à l'IRM par des techniques histologiques de plus en plus évoluées [174].

Comme nous l'avons vu dans notre étude, les ovins atteints de tremblante constitue un modèle d'étude des ESST. La propagation des différentes souches de prions au sein de l'encéphale n'est à ce jour pas encore clairement élucidée. L'utilisation des paramètres issus de la DTI dans ce modèle d'ESST pourrait par conséquent s'avérer pertinente pour en améliorer la compréhension. Les données de DTI obtenues à partir du groupe de moutons sains que nous avons étudiés vont à ce titre être intégrées à une étude qui prévoit d'évaluer plusieurs groupes d'ovins auxquels différentes souches de tremblante auront été inoculées par voie orale ou intracérébrale.

CONCLUSION

Le modèle ovin peut offrir une occasion unique de tester de nouvelles modalités thérapeutiques des maladies neurodégénératives pouvant potentiellement être traduites en applications cliniques chez l'Homme.

Notre travail a permis d'établir des paramètres d'acquisition IRM pour l'obtention d'images de qualité sur des échantillons *ex vivo*. De plus, nous avons obtenu des valeurs de FA et de MD au sein de huit structures de la substance grise (l'hippocampe, le noyau caudé, le pallidum et le putamen pour chaque hémisphère). Ainsi, ces données pourront être comparées à celles d'ovins malades pour des conditions d'examen identiques à celles que nous avons utilisées.

La faisabilité de l'utilisation de l'IRM et de la DTI sur l'encéphale d'ovins *ex vivo*, comme le montre cette étude, pourrait élargir encore les domaines d'utilisation de ce modèle et ouvrir la voie à de futures études de neuroimagerie translationnelle.

L'utilisation des techniques récentes issues de l'IRM comme la diffusion et la tractographie sur le modèle ovin en est encore à ses prémices mais laisse présager des avancées prometteuses.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, Alexandra DEVIERS, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de Madeleine CHAUVELOT intitulée « **Le modèle ovin en neuroimagerie translationnelle : réalisation d'un atlas IRM 2D et étude de faisabilité de l'Imagerie du Tenseur de Diffusion quantitative de l'encéphale du Mouton** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 14/10/2019
Docteur Alexandra DEVIERS
Maître de Conférences
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Vu :
Le Directeur par intérim de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Toulouse
Frédéric BOUSQUET



Vu : 17/10/19
Le Président du jury :
Professeure Isabelle BERRY



Faculté de Médecine Rangueil
Biophysique Médicale - CHU Rangueil
1, avenue Jean Poulhès - TSA 50032
31059 TOULOUSE Cedex

par déléguation,


Caroline LACROUX
Directrice de l'enseignement
et de la vie étudiante

Vu et autorisation de l'impression :
Présidente de l'Université Paul Sabatier
Madame Régine ANDRE-OBRECHT

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

Richard GUILLET

Mme Madeleine CHAUVELOT
a été admis(e) sur concours en : 2014
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 18/07/2018
a validé son année d'approfondissement le : 05/09/2019
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



Université
de Toulouse

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Hippocrate, *Le Serment ; la loi ; de l'art ; du médecin...*, traduction Charles Daremberg, Paris, Lefèvre, 1843, 566 p., p. 482. n.d.
- [2] Kastel B, Vetter D, Patay Z, German P. *Comprendre L'IRM*. 7 ème édition. Elsevier; 2011.
- [3] Eustache P. *Evaluation par IRM multimodale des modifications cérébrales chez des patients Alzheimer à un stade prodromique. Optimisation de la relaxométrie T2* par IRM*. Université de Toulouse, 2015.
- [4] Cours d'IRM (Imagerie par résonance magnétique) en ligne n.d. <https://www.imaios.com/fr/e-Cours/e-MRI/> (accessed October 3, 2019).
- [5] Garrett RH, Grisham CM, Lubochinsky B. *Biochimie*. Paris: De Boeck Université; 2000.
- [6] d'Anjou M-A. *Principles of Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging*. Textb. Vet. Diagn. Radiol., Elsevier; 2018, p. 71–95. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48247-9.00017-6>.
- [7] Ella A, Barrière DA, Adriaensen H, Palmer DN, Melzer TR, Mitchell NL, et al. The development of brain magnetic resonance approaches in large animal models for preclinical research. *Anim Front* 2019;9:44–51. <https://doi.org/10.1093/af/vfz024>.
- [8] Savatovsky J, Marro B. *Séquence de diffusion dans l'IRM cérébral* 2003.
- [9] Poupon C. *IRM de diffusion cérébrale : théorie & pratique* 2016.
- [10] Sibai M, Elmoutawakil B, Sekkat Z, Bourezgui M, Midafi N, Rafai MA, et al. Apport de l'IRM de diffusion dans le diagnostic de la maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique. *NPG Neurol - Psychiatr - Gériatrie* 2009;9:170–4. <https://doi.org/10.1016/j.npg.2008.12.006>.
- [11] Oppenheim C, Ducreux D, Rodrigo S, Hodel J, Tourdias T, Charbonneau F, et al. Imagerie en tenseur de diffusion et tractographie de l'encéphale et de la moelle. *J Radiol* 2007;88:510–20. [https://doi.org/10.1016/S0221-0363\(07\)89850-7](https://doi.org/10.1016/S0221-0363(07)89850-7).
- [12] *Principes de l'exploration de la diffusion de l'eau en IRM*. IMAIOS n.d. <https://www.imaios.com/fr/e-Cours/e-MRI/irm-diffusion-tenseur/irm-diffusion-tenseur> (accessed October 3, 2019).
- [13] Basser PJ. Inferring microstructural features and the physiological state of tissues from diffusion-weighted images. *NMR Biomed* 1995;8:333–44. <https://doi.org/10.1002/nbm.1940080707>.
- [14] Sen PN, Basser PJ. A Model for Diffusion in White Matter in the Brain. *Biophys J* 2005;89:2927–38. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.063016>.
- [15] Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed* 2002;15:435–55. <https://doi.org/10.1002/nbm.782>.
- [16] Pieri V, Trovatielli M, Cadioli M, Zani DD, Brizzola S, Ravasio G, et al. In vivo Diffusion Tensor Magnetic Resonance Tractography of the Sheep Brain: An Atlas of the Ovine White Matter Fiber Bundles. *Front Vet Sci* 2019;6:345. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00345>.

- [17] 7 Cours Tracto 2016-2.pdf n.d.
- [18] Whitford TJ, Kubicki M, Shenton ME. Diffusion Tensor Imaging, Structural Connectivity, and Schizophrenia. *Schizophr Res Treat* 2011;2011:1–7. <https://doi.org/10.1155/2011/709523>.
- [19] Grow DA, McCarrey JR, Navara CS. Advantages of nonhuman primates as preclinical models for evaluating stem cell-based therapies for Parkinson’s disease. *Stem Cell Res* 2016;17:352–66. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.08.013>.
- [20] Keifer J, Summers CH. Putting the “Biology” Back into “Neurobiology”: The Strength of Diversity in Animal Model Systems for Neuroscience Research. *Front Syst Neurosci* 2016;10. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2016.00069>.
- [21] Morton AJ, Avanzo L. Executive Decision-Making in the Domestic Sheep. *PLoS ONE* 2011;6:e15752. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015752>.
- [22] Bailey EL, McCulloch J, Sudlow C, Wardlaw JM. Potential Animal Models of Lacunar Stroke: A Systematic Review. *Stroke* 2009;40. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.528430>.
- [23] Genty C. Modèles animaux d’accidents vasculaires cérébraux par ischémie touchant le substance blanche. 2014.
- [24] Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neuroscience: exploring the brain*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
- [25] Perentos N, Martins AQ, Watson TC, Bartsch U, Mitchell NL, Palmer DN, et al. Translational neurophysiology in sheep: measuring sleep and neurological dysfunction in CLN5 Batten disease affected sheep. *Brain* 2015;138:862–74. <https://doi.org/10.1093/brain/awv026>.
- [26] Morton AJ. Large-Brained Animal Models of Huntington’s Disease: Sheep. In: Precious SV, Rosser AE, Dunnett SB, editors. *Huntington’s Dis.*, vol. 1780, New York, NY: Springer New York; 2018, p. 221–39. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7825-0_12.
- [27] Clarke IJ, Cummins JT. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology* 1982;111:1737–9. <https://doi.org/10.1210/endo-111-5-1737>.
- [28] Tai Y-C, Laforest R. Instrumentation aspects of animal PET. *Annu Rev Biomed Eng* 2005;7:255–85. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140021>.
- [29] Pain F. *Modèles animaux et imagerie* 2002.
- [30] Roselli CE, Stormshak F. The ovine sexually dimorphic nucleus, aromatase, and sexual partner preferences in sheep. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;118:252–6. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.10.009>.
- [31] Eaton SL, Wishart TM. Bridging the gap: large animal models in neurodegenerative research. *Mamm Genome* 2017;28:324–37. <https://doi.org/10.1007/s00335-017-9687-6>.
- [32] Hau J, Van Hoosier GL, editors. *Handbook of laboratory animal science*. vol. 1. 2nd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press; 2003.
- [33] Opdam HI, Federico P, Jackson GD, Buchanan J, Abbott DF, Fabinyi GCA, et al. A sheep model for the study of focal epilepsy with concurrent intracranial EEG and functional MRI. *Epilepsia* 2002;43:779–87.

- [34] Boltze J, Ferrara F, Hainsworth AH, Bridges LR, Zille M, Lobsien D, et al. Lesional and perilesional tissue characterization by automated image processing in a novel gyrencephalic animal model of peracute intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* 2018;271678X18802119. <https://doi.org/10.1177/0271678X18802119>.
- [35] Grimmelt A-C, Eitzen S, Balakhadze I, Fischer B, Wölfer J, Schiffbauer H, et al. Closed Traumatic Brain Injury Model in Sheep Mimicking High-Velocity, Closed Head Trauma in Humans. *Cent Eur Neurosurg* 2011;72:120–6. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1271732>.
- [36] Sedel F, Turpin J-C, Baumann N. Présentations neurologiques des maladies lysosomales chez l'adulte. *Rev Neurol (Paris)* 2007;163:919–29. [https://doi.org/10.1016/S0035-3787\(07\)92635-1](https://doi.org/10.1016/S0035-3787(07)92635-1).
- [37] Mole S, Williams R, Goebel H, editors. *The Neuronal Ceroid Lipofuscinoses (Batten Disease)*. vol. 1. Oxford University Press; 2012. <https://doi.org/10.1093/med/9780199590018.001.0001>.
- [38] Orphanet. Céroïde lipofuscinoïse neuronale juvénile n.d. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=11290&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=BATTEN&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Maladie\(s\)/groupes%20de%20maladies=Ceroïde-lipofuscinoïse-neuronale-juvenile&title=C%E9ro%E9fde-lipofuscinoïse%20neuronale%20juv%E9nile&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=11290&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=BATTEN&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Maladie(s)/groupes%20de%20maladies=Ceroïde-lipofuscinoïse-neuronale-juvenile&title=C%E9ro%E9fde-lipofuscinoïse%20neuronale%20juv%E9nile&search=Disease_Search_Simple) (accessed September 22, 2019).
- [39] Rider JA, Rider DL. Batten disease: past, present, and future. *Am J Med Genet Suppl* 1988;5:21–6.
- [40] Mole SE, Cotman SL. Genetics of the neuronal ceroid lipofuscinoses (Batten disease). *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 2015;1852:2237–41. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.05.011>.
- [41] Geraets RD, Koh S yon, Hastings ML, Kielian T, Pearce DA, Weimer JM. Moving towards effective therapeutic strategies for Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *Orphanet J Rare Dis* 2016;11:40. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0414-2>.
- [42] Goebel HH, editor. *The neuronal ceroid lipofuscinoses (batten disease)*. Amsterdam: IOS Press; 1999.
- [43] Haltia M. The neuronal ceroid-lipofuscinoses. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:1–13. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.1.1>.
- [44] Haltia M. The neuronal ceroid-lipofuscinoses: From past to present. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 2006;1762:850–6. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.06.010>.
- [45] Best HL, Neverman NJ, Wicky HE, Mitchell NL, Leitch B, Hughes SM. Characterisation of early changes in ovine CLN5 and CLN6 Batten disease neural cultures for the rapid screening of therapeutics. *Neurobiol Dis* 2017;100:62–74. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.01.001>.
- [46] Jolly RD, West DM. Blindness in South Hampshire sheep: a neuronal ceroidlipofuscinosis. *N Z Vet J* 1976;24:123. <https://doi.org/10.1080/00480169.1976.34298>.

- [47] Jolly RD, Brown S, Das AM, Walkley SU. Mitochondrial dysfunction in the neuronal ceroid-lipofuscinoses (Batten disease). *Neurochem Int* 2002;40:565–71. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(01\)00128-0](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(01)00128-0).
- [48] Frugier T, Mitchell NL, Tammen I, Houweling PJ, Arthur DG, Kay GW, et al. A new large animal model of CLN5 neuronal ceroid lipofuscinosis in Borderdale sheep is caused by a nucleotide substitution at a consensus splice site (c.571+1G>A) leading to excision of exon 3. *Neurobiol Dis* 2008;29:306–15. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.09.006>.
- [49] Tammen I, Houweling PJ, Frugier T, Mitchell NL, Kay GW, Cavanagh JAL, et al. A missense mutation (c.184C>T) in ovine CLN6 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in Merino sheep whereas affected South Hampshire sheep have reduced levels of CLN6 mRNA. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762:898–905. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.09.004>.
- [50] Pinnapureddy AR, Stayner C, McEwan J, Baddeley O, Forman J, Eccles MR. Large animal models of rare genetic disorders: sheep as phenotypically relevant models of human genetic disease. *Orphanet J Rare Dis* 2015;10:107. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0327-5>.
- [51] Amorim IS, Mitchell NL, Palmer DN, Sawiak SJ, Mason R, Wishart TM, et al. Molecular neuropathology of the synapse in sheep with CLN5 Batten disease. *Brain Behav* 2015;5:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/brb3.401>.
- [52] Oswald MJ, Palmer DN, Kay GW, Barwell KJ, Cooper JD. Location and connectivity determine GABAergic interneuron survival in the brains of South Hampshire sheep with CLN6 neuronal ceroid lipofuscinosis. *Neurobiol Dis* 2008;32:50–65. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.06.004>.
- [53] Cook RW, Jolly RD, Palmer DN, Tammen I, Broom MF, McKinnon R. Neuronal ceroid lipofuscinosis in Merino sheep. *Aust Vet J* 2002;80:292–7. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2002.tb10847.x>.
- [54] Jolly RD, Arthur DG, Kay GW, Palmer DN. Neuronal ceroid-lipofuscinosis in Borderdale sheep. *N Z Vet J* 2002;50:199–202. <https://doi.org/10.1080/00480169.2002.36311>.
- [55] Weber K, Pearce DA. Large Animal Models for Batten Disease: A Review. *J Child Neurol* 2013;28:1123–7. <https://doi.org/10.1177/0883073813493666>.
- [56] Cronin GM, Beganovic DF, Sutton AL, Palmer DJ, Thomson PC, Tammen I. Manifestation of neuronal ceroid lipofuscinosis in Australian Merino sheep: Observations on altered behaviour and growth. *Appl Anim Behav Sci* 2016;175:32–40. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.11.012>.
- [57] Mitchell NL, Russell KN, Wellby MP, Wicky HE, Schoderboeck L, Barrell GK, et al. Longitudinal In Vivo Monitoring of the CNS Demonstrates the Efficacy of Gene Therapy in a Sheep Model of CLN5 Batten Disease. *Mol Ther* 2018;26:2366–78. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.07.015>.
- [58] Palmer DN, Neverman NJ, Chen JZ, Chang C-T, Houweling PJ, Barry LA, et al. Recent studies of ovine neuronal ceroid lipofuscinoses from BARN, the Batten Animal Research Network. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 2015;1852:2279–86. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.06.013>.

- [59] Eaton SL, Proudfoot C, Lillico SG, Skehel P, Kline RA, Hamer K, et al. CRISPR/Cas9 mediated generation of an ovine model for infantile neuronal ceroid lipofuscinosis (CLN1 disease). *Sci Rep* 2019;9:9891. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45859-9>.
- [60] Orphanet. Maladie de Gaucher n.d. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=355 (accessed November 7, 2019).
- [61] La_maladie_de_Gaucher_Doc_Orphanet_.pdf n.d.
- [62] Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651–61. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0901281>.
- [63] Almeida M do R. Glucocerebrosidase involvement in Parkinson disease and other synucleinopathies. *Front Neurol* 2012;3:65. <https://doi.org/10.3389/fneur.2012.00065>.
- [64] Chérin P, Rose C, de Roux-Serratrice C, Tardy D, Dobbelaere D, Grosbois B, et al. The neurological manifestations of Gaucher disease type 1: the French Observatoire on Gaucher disease (FROG). *J Inherit Metab Dis* 2010;33:331–8. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9095-5>.
- [65] Dalbies F, Ianotto JC, Marion V, Berthou C. Le suivi de la maladie de Gaucher: une approche pluridisciplinaire. *Hématologie* 2009;15:281–90. <https://doi.org/10.1684/hma.2009.0368>.
- [66] Farfel-Becker T, Vitner EB, Futerman AH. Animal models for Gaucher disease research. *Dis Model Mech* 2011;4:746–52. <https://doi.org/10.1242/dmm.008185>.
- [67] Karageorgos L, Lancaster MJ, Nimmo JS, Hopwood JJ. Gaucher disease in sheep. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:209–15. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9230-3>.
- [68] Karageorgos L, Hein L, Rozaklis T, Adams M, Duplock S, Snel M, et al. Glycosphingolipid analysis in a naturally occurring ovine model of acute neuronopathic Gaucher disease. *Neurobiol Dis* 2016;91:143–54. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.03.011>.
- [69] Harper PS. The epidemiology of Huntington's disease. *Hum Genet* 1992;89:365–76. <https://doi.org/10.1007/bf00194305>.
- [70] Mochel F, Benaich S, Rabier D, Durr A. Validation of Plasma Branched Chain Amino Acids as Biomarkers in Huntington Disease. *Arch Neurol* 2011;68. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.358>.
- [71] Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, Hayden MR, Kay C, Leavitt BR, et al. Huntington disease. *Nat Rev Dis Primer* 2015;1:15005. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.5>.
- [72] Studies begin on first Huntington's disease sheep imported to UK. *Univ Camb* 2017. <https://www.cam.ac.uk/research/news/studies-begin-on-first-huntingtons-disease-sheep-imported-to-uk> (accessed September 22, 2019).
- [73] Handley ReneeR, Reid SJ, Patassini S, Rudiger SR, Obolonkin V, McLaughlan CliveJ, et al. Metabolic disruption identified in the Huntington's disease transgenic sheep model. *Sci Rep* 2016;6:20681. <https://doi.org/10.1038/srep20681>.
- [74] Adjou KT, Comoy E, Deslys J-P, Grassi J, Ouidja MO, Brugere H, et al. Méthodes de diagnostic des « maladies à prions » chez l'homme et chez l'animal. *Bull Académie Vét Fr* 2005;429. <https://doi.org/10.4267/2042/47799>.

- [75] Maladies à prions / Maladie de Creutzfeldt-Jakob. Inserm - Sci Pour Santé n.d. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/maladies-prions-maladie-creutzfeldt-jakob> (accessed July 4, 2019).
- [76] Maladie de Creutzfeldt-Jakob. Nombre de cas décédés certains ou probables en France. Données mises à jour au 30 juin 2019. / Données épidémiologiques / Maladie de Creutzfeldt-Jakob / Risques infectieux d'origine alimentaire / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil n.d. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Maladie-de-Creutzfeldt-Jakob/Donnees-epidemiologiques/Maladie-de-Creutzfeldt-Jakob.-Nombre-de-cas-decedes-certains-ou-probables-en-France.-Donnees-mises-a-jour-au-30-juin-2019> (accessed July 5, 2019).
- [77] Comber T, Morborne H. A letter to Dr Hunter, physician in York, concerning the rickets in sheep. *Real Improv Agric Lett Reade Peacock 1772*:73–83.
- [78] Taylor D. Inactivation of the BSE agent. *C R Biol 2002*;325:75–6.
- [79] DeArmond SJ, Bouzamondo E. Fundamentals of prion biology and diseases. *Toxicology 2002*;181–182:9–16.
- [80] Liautard J-P, Alvarez-Martinez M-T, Féraudet C, Torrent J. La protéine prion : structure, dynamique et conversion in vitro. *Médecine/Sciences 2002*;18:62–9. <https://doi.org/10.1051/medsci/200218162>.
- [81] Parchi P, Giese A, Capellari S, Brown P, Schulz-Schaeffer W, Windl O, et al. Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol 1999*;46:224–33.
- [82] Bruce ME. TSE strain variation. *Br Med Bull 2003*;66:99–108. <https://doi.org/10.1093/bmb/66.1.99>.
- [83] Thackray AM, Hopkins L, Lockey R, Spiropoulos J, Bujdoso R. Emergence of multiple prion strains from single isolates of ovine scrapie. *J Gen Virol 2011*;92:1482–91. <https://doi.org/10.1099/vir.0.028886-0>.
- [84] Benestad SL, Arsaç J-N, Goldmann W, Nöremark M. Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. *Vet Res 2008*;39:19. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007056>.
- [85] Baylis M, Goldmann W. The genetics of scrapie in sheep and goats. *Curr Mol Med 2004*;4:385–96. <https://doi.org/10.2174/1566524043360672>.
- [86] Tremblante n.d. <http://www.gds15.fr/maladies-ovins/tremblante> (accessed July 7, 2019).
- [87] Ryder S, Dexter G, Bellworthy S, Tongue S. Demonstration of lateral transmission of scrapie between sheep kept under natural conditions using lymphoid tissue biopsy. *Res Vet Sci 2004*;76:211–7. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2003.11.007>.
- [88] van Keulen LJM, Vromans MEW, van Zijderveld FG. Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 2002*;110:23–32. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2002.100104.x>.
- [89] Ersdal C, Ulvund MJ, Espenes A, Benestad SL, Sarradin P, Landsverk T. Mapping PrPSc propagation in experimental and natural scrapie in sheep with different PrP genotypes. *Vet Pathol 2005*;42:258–74. <https://doi.org/10.1354/vp.42-3-258>.
- [90] Gough KC, Maddison BC. Prion transmission: prion excretion and occurrence in the environment. *Prion 2010*;4:275–82. <https://doi.org/10.4161/pri.4.4.13678>.

- [91] Andréoletti O, Berthon P, Marc D, Sarradin P, Grosclaude J, van Keulen L, et al. Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J Gen Virol* 2000;81:3115–26. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-12-3115>.
- [92] Konold T, Moore S, Bellworthy SJ, Terry LA, Thorne L, Ramsay A, et al. Evidence of effective scrapie transmission via colostrum and milk in sheep. *BMC Vet Res* 2013;9:99. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-99>.
- [93] Adams DB. Prenatal transmission of scrapie in sheep and goats: A case study for veterinary public health. *Open Vet J* 2016;6:194. <https://doi.org/10.4314/ovj.v6i3.8>.
- [94] Hunter N, Foster J, Chong A, McCutcheon S, Parnham D, Eaton S, et al. Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol* 2002;83:2897–905. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-11-2897>.
- [95] Fediaevsky A, Gasqui P, Calavas D, Ducrot C. Discrepant epidemiological patterns between classical and atypical scrapie in sheep flocks under French TSE control measures. *Vet J* 2010;185:338–40. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.019>.
- [96] Benestad SL, Sarradin P, Thu B, Schönheit J, Tranulis MA, Bratberg B. Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Vet Rec* 2003;153:202–8. <https://doi.org/10.1136/vr.153.7.202>.
- [97] Greenlee JJ. Review: Update on Classical and Atypical Scrapie in Sheep and Goats. *Vet Pathol* 2019;56:6–16. <https://doi.org/10.1177/0300985818794247>.
- [98] Wadsworth JDF, Asante EA, Desbruslais M, Linehan JM, Joiner S, Gowland I, et al. Human prion protein with valine 129 prevents expression of variant CJD phenotype. *Science* 2004;306:1793–6. <https://doi.org/10.1126/science.1103932>.
- [99] Young GS, Geschwind MD, Fischbein NJ, Martindale JL, Henry RG, Liu S, et al. Diffusion-weighted and fluid-attenuated inversion recovery imaging in Creutzfeldt-Jakob disease: high sensitivity and specificity for diagnosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26:1551–62.
- [100] Vitali P, Maccagnano E, Caverzasi E, Henry RG, Haman A, Torres-Chae C, et al. Diffusion-weighted MRI hyperintensity patterns differentiate CJD from other rapid dementias. *Neurology* 2011;76:1711–9. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31821a4439>.
- [101] Haïk DS. Actualités sur les maladies à prions chez l'Homme n.d.:84.
- [102] Nougaret S, Brunel H, Bourbotte G, Bonafé A. Imagerie de diffusion et maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique. *J Neuroradiol* 2007;34:260–6. <https://doi.org/10.1016/j.neurad.2007.06.002>.
- [103] Caverzasi E, Henry RG, Vitali P, Lobach IV, Kornak J, Bastianello S, et al. Application of quantitative DTI metrics in sporadic CJD. *NeuroImage Clin* 2014;4:426–35. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2014.01.011>.
- [104] Geschwind MD, Potter CA, Sattavat M, Garcia PA, Rosen HJ, Miller BL, et al. Correlating DWI MRI with pathologic and other features of Jakob-Creutzfeldt disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2009;23:82–7.
- [105] Ella A, Keller M. Construction of an MRI 3D high resolution sheep brain template. *Magn Reson Imaging* 2015;33:1329–37. <https://doi.org/10.1016/j.mri.2015.09.001>.

- [106] Ella A, Delgadillo JA, Chemineau P, Keller M. Computation of a high-resolution MRI 3D stereotaxic atlas of the sheep brain. *J Comp Neurol* 2017;525:676–692.
- [107] Lee W, Lee SD, Park MY, Foley L, Purcell-Estabrook E, Kim H, et al. Functional and diffusion tensor magnetic resonance imaging of the sheep brain. *BMC Vet Res* 2015;11:262. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0581-8>.
- [108] Alahmari DM, Skiöld B, Barton SK, Nitsos I, McDonald C, Miller SL, et al. Diffusion Tensor Imaging Colour Mapping Threshold for Identification of Ventilation-Induced Brain Injury after Intrauterine Inflammation in Preterm Lambs. *Front Pediatr* 2017;5:70. <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00070>.
- [109] Olsen et al. Imaging techniques: CT, MRI, and PET scanning. Swindle MM Swine Lab. *Surg. Anesth. Imaging Exp. Tech.* CRC Press, 2007, p. 387–95.
- [110] Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of laboratory animal management and welfare. 3rd ed. Oxford, UK ; Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2003.
- [111] Ward VL, Estroff JA, Nguyen HT, Lakshmanan Y, Hayward A, Jaramillo D, et al. Fetal Sheep Development on Ultrasound and Magnetic Resonance Imaging: A Standard for the in utero Assessment of Models of Congenital Abnormalities. *Fetal Diagn Ther* 2006;21:444–57. <https://doi.org/10.1159/000093888>.
- [112] Alstrup AKO, Winterdahl M. Imaging techniques in large animals. *Scand J Lab Anim Sci* 2009;36:55–66.
- [113] Miller KL, Stagg CJ, Douaud G, Jbabdi S, Smith SM, Behrens TEJ, et al. Diffusion imaging of whole, post-mortem human brains on a clinical MRI scanner. *NeuroImage* 2011;57:167–81. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.03.070>.
- [114] McNab JA, Jbabdi S, Deoni SCL, Douaud G, Behrens TEJ, Miller KL. High resolution diffusion-weighted imaging in fixed human brain using diffusion-weighted steady state free precession. *NeuroImage* 2009;46:775–85. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.01.008>.
- [115] Dawe RJ, Bennett DA, Schneider JA, Vasireddi SK, Arfanakis K. Postmortem MRI of human brain hemispheres: T_2 relaxation times during formaldehyde fixation. *Magn Reson Med* 2009;61:810–8. <https://doi.org/10.1002/mrm.21909>.
- [116] D’Arceuil H, de Crespigny A. The effects of brain tissue decomposition on diffusion tensor imaging and tractography. *NeuroImage* 2007;36:64–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.02.039>.
- [117] Birkl C, Langkammer C, Golob-Schwarzl N, Leoni M, Haybaeck J, Goessler W, et al. Effects of formalin fixation and temperature on MR relaxation times in the human brain. *NMR Biomed* 2016;29:458–65. <https://doi.org/10.1002/nbm.3477>.
- [118] Baba Y, Lerch MM, Stark DD, Tanimoto A, Kreft BP, Zhao L, et al. Time after excision and temperature alter ex vivo tissue relaxation time measurements. *J Magn Reson Imaging JMRI* 1994;4:647–51. <https://doi.org/10.1002/jmri.1880040504>.
- [119] Fishbein KW, Gluzband YA, Kaku M, Ambia-Sobhan H, Shapses SA, Yamauchi M, et al. Effects of formalin fixation and collagen cross-linking on T2 and magnetization transfer in bovine nasal cartilage. *Magn Reson Med* 2007;57:1000–11. <https://doi.org/10.1002/mrm.21216>.
- [120] Puchtler H, Meloan SN. On the chemistry of formaldehyde fixation and its effects on immunohistochemical reactions. *Histochemistry* 1985;82:201–4.

- [121] Tovi M, Ericsson A. Measurements of T1 and T2 over Time in Formalin-Fixed Human Whole-Brain Specimens. *Acta Radiol* 1992;33:400–4. <https://doi.org/10.1177/028418519203300503>.
- [122] Shepherd TM, Flint JJ, Thelwall PE, Stanisz GJ, Mareci TH, Yachnis AT, et al. Postmortem interval alters the water relaxation and diffusion properties of rat nervous tissue — Implications for MRI studies of human autopsy samples. *NeuroImage* 2009;44:820–6. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.09.054>.
- [123] Kennan RP, Richardson KA, Zhong J, Maryanski MJ, Gore JC. The effects of cross-link density and chemical exchange on magnetization transfer in polyacrylamide gels. *J Magn Reson B* 1996;110:267–77.
- [124] Raman MR, Shu Y, Lesnick TG, Jack CR, Kantarci K. Regional T1 relaxation time constants in Ex vivo human brain: Longitudinal effects of formalin exposure: Regional T1 Mapping in Fixed Brain. *Magn Reson Med* 2017;77:774–8. <https://doi.org/10.1002/mrm.26140>.
- [125] van Duijn S, Nabuurs RJA, van Rooden S, Maat-Schieman MLC, van Duinen SG, van Buchem MA, et al. MRI artifacts in human brain tissue after prolonged formalin storage. *Magn Reson Med* 2011;65:1750–8. <https://doi.org/10.1002/mrm.22758>.
- [126] D’Arceuil HE, Westmoreland S, de Crespigny AJ. An approach to high resolution diffusion tensor imaging in fixed primate brain. *NeuroImage* 2007;35:553–65. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.12.028>.
- [127] Moore GRW, Leung E, MacKay AL, Vavasour IM, Whittall KP, Cover KS, et al. A pathology-MRI study of the short-T2 component in formalin-fixed multiple sclerosis brain. *Neurology* 2000;55:1506–10. <https://doi.org/10.1212/WNL.55.10.1506>.
- [128] Laule C, Kozlowski P, Leung E, Li DKB, MacKay AL, Moore GRW. Myelin water imaging of multiple sclerosis at 7 T: Correlations with histopathology. *NeuroImage* 2008;40:1575–80. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.12.008>.
- [129] Sun H, Walsh AJ, Lebel RM, Blevins G, Catz I, Lu J-Q, et al. Validation of quantitative susceptibility mapping with Perls’ iron staining for subcortical gray matter. *NeuroImage* 2015;105:486–92. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.11.010>.
- [130] Shatil AS, Uddin MN, Matsuda KM, Figley CR. Quantitative Ex Vivo MRI Changes due to Progressive Formalin Fixation in Whole Human Brain Specimens: Longitudinal Characterization of Diffusion, Relaxometry, and Myelin Water Fraction Measurements at 3T. *Front Med* 2018;5:31. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00031>.
- [131] D’Arceuil H, de Crespigny A. The effects of brain tissue decomposition on diffusion tensor imaging and tractography. *NeuroImage* 2007;36:64–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.02.039>.
- [132] Scheurer E, Lovblad K-O, Kreis R, Maier SE, Boesch C, Dirnhofer R, et al. Forensic application of postmortem diffusion-weighted and diffusion tensor MR imaging of the human brain in situ. *AJNR Am J Neuroradiol* 2011;32:1518–24. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A2508>.
- [133] Guilfoyle DN, Helpert JA, Lim KO. Diffusion tensor imaging in fixed brain tissue at 7.0 T. *NMR Biomed* 2003;16:77–81. <https://doi.org/10.1002/nbm.814>.
- [134] Sun S-W, Neil JJ, Liang H-F, He YY, Schmidt RE, Hsu CY, et al. Formalin fixation alters water diffusion coefficient magnitude but not anisotropy in infarcted brain. *Magn Reson Med* 2005;53:1447–51. <https://doi.org/10.1002/mrm.20488>.

- [135] Sun S-W, Neil JJ, Song S-K. Relative indices of water diffusion anisotropy are equivalent in live and formalin-fixed mouse brains. *Magn Reson Med* 2003;50:743–8. <https://doi.org/10.1002/mrm.10605>.
- [136] D’Arceuil H, de Crespigny A. The effects of brain tissue decomposition on diffusion tensor imaging and tractography. *NeuroImage* 2007;36:64–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.02.039>.
- [137] Madi S, Hasan KM, Narayana PA. Diffusion tensor imaging of in vivo and excised rat spinal cord at 7 T with an icosahedral encoding scheme. *Magn Reson Med* 2005;53:118–25. <https://doi.org/10.1002/mrm.20304>.
- [138] Miller KL, Stagg CJ, Douaud G, Jbabdi S, Smith SM, Behrens TEJ, et al. Diffusion imaging of whole, post-mortem human brains on a clinical MRI scanner. *NeuroImage* 2011;57:167–81. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.03.070>.
- [139] Schmierer K, Wheeler-Kingshott CAM, Boulby PA, Scaravilli F, Altmann DR, Barker GJ, et al. Diffusion tensor imaging of post mortem multiple sclerosis brain. *NeuroImage* 2007;35:467–77. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.12.010>.
- [140] Tashiro K, Shiotani S, Kobayashi T, Kaga K, Saito H, Someya S, et al. Cerebral relaxation times from postmortem MR imaging of adults. *Magn Reson Med Sci MRMS Off J Jpn Soc Magn Reson Med* 2015;14:51–6. <https://doi.org/10.2463/mrms.2013-0126>.
- [141] Pfefferbaum A, Sullivan EV, Adalsteinsson E, Garrick T, Harper C. Postmortem MR imaging of formalin-fixed human brain. *NeuroImage* 2004;21:1585–95. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2003.11.024>.
- [142] Arribarat G. Approche par IRM multiparamétrique pour le Tronc cérébral. Paul Sabatier, 2018.
- [143] The Sheep Brain Atlas at Michigan State University n.d. <https://msu.edu/~brains/brains/sheep/index.html> (accessed July 21, 2019).
- [144] Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophys J* 1994;66:259–67. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(94\)80775-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(94)80775-1).
- [145] Shatil AS, Matsuda KM, Figley CR. A Method for Whole Brain Ex Vivo Magnetic Resonance Imaging with Minimal Susceptibility Artifacts. *Front Neurol* 2016;7. <https://doi.org/10.3389/fneur.2016.00208>.
- [146] Dardente H. Melatonin-dependent timing of seasonal reproduction by the pars tuberalis: pivotal roles for long daylengths and thyroid hormones. *J Neuroendocrinol* 2012;24:249–66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02250.x>.
- [147] Clarke IJ, Caraty A. Kisspeptin and seasonality of reproduction. *Adv Exp Med Biol* 2013;784:411–30. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6199-9_19.
- [148] Dwyer CM. Maternal behaviour and lamb survival: from neuroendocrinology to practical application. *Anim Int J Anim Biosci* 2014;8:102–12. <https://doi.org/10.1017/S1751731113001614>.
- [149] Delgadillo JA, Gelez H, Ungerfeld R, Hawken PAR, Martin GB. The “male effect” in sheep and goats--revisiting the dogmas. *Behav Brain Res* 2009;200:304–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.02.004>.
- [150] Poore KR, Boullin JP, Cleal JK, Newman JP, Noakes DE, Hanson MA, et al. Sex- and age-specific effects of nutrition in early gestation and early postnatal life on

- hypothalamo-pituitary-adrenal axis and sympathoadrenal function in adult sheep. *J Physiol* 2010;588:2219–37. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.187682>.
- [151] Nowak R, Keller M, Lévy F. Mother-young relationships in sheep: a model for a multidisciplinary approach of the study of attachment in mammals. *J Neuroendocrinol* 2011;23:1042–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02205.x>.
- [152] Nowak R, Keller M, Val-Laillet D, Lévy F. Perinatal visceral events and brain mechanisms involved in the development of mother-young bonding in sheep. *Horm Behav* 2007;52:92–8. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.021>.
- [153] Lévy F, Keller M. Neurobiology of Maternal Behavior in Sheep. *Adv. Study Behav.*, vol. 38, Elsevier; 2008, p. 399–437. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(08\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(08)00008-9).
- [154] Lévy F, Keller M. Olfactory mediation of maternal behavior in selected mammalian species. *Behav Brain Res* 2009;200:336–45. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.12.017>.
- [155] Hein LK, Rozaklis T, Adams MK, Hopwood JJ, Karageorgos L. Lipid composition of microdomains is altered in neuronopathic Gaucher disease sheep brain and spleen. *Mol Genet Metab* 2017;121:259–70. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.05.010>.
- [156] Reid SJ, Mckean NE, Henty K, Portelius E, Blennow K, Rudiger SR, et al. Alzheimer's disease markers in the aged sheep (*Ovis aries*). *Neurobiol Aging* 2017;58:112–9. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.020>.
- [157] Schmierer K, Wheeler-Kingshott CAM, Tozer DJ, Boulby PA, Parkes HG, Yousry TA, et al. Quantitative magnetic resonance of postmortem multiple sclerosis brain before and after fixation. *Magn Reson Med* 2008;59:268–77. <https://doi.org/10.1002/mrm.21487>.
- [158] Schmierer K, Thavarajah JR, An SF, Brandner S, Miller DH, Tozer DJ. Effects of formalin fixation on magnetic resonance indices in multiple sclerosis cortical gray matter. *J Magn Reson Imaging* 2010;32:1054–60. <https://doi.org/10.1002/jmri.22381>.
- [159] Shepherd TM, Thelwall PE, Stanisz GJ, Blackband SJ. Aldehyde fixative solutions alter the water relaxation and diffusion properties of nervous tissue. *Magn Reson Med* 2009;62:26–34. <https://doi.org/10.1002/mrm.21977>.
- [160] Syková E. Extrasynaptic volume transmission and diffusion parameters of the extracellular space. *Neuroscience* 2004;129:861–76. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.077>.
- [161] Schulte T, Sullivan EV, Müller-Oehring EM, Adalsteinsson E, Pfefferbaum A. Corpus callosal microstructural integrity influences interhemispheric processing: a diffusion tensor imaging study. *Cereb Cortex N Y N 1991* 2005;15:1384–92. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhi020>.
- [162] Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, Molko N, et al. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging JMRI* 2001;13:534–46. <https://doi.org/10.1002/jmri.1076>.
- [163] Widjaja E, Geibprasert S, Otsubo H, Snead OC, Mahmoodabadi SZ. Diffusion Tensor Imaging Assessment of the Epileptogenic Zone in Children with Localization-Related Epilepsy. *Am J Neuroradiol* 2011;32:1789–94. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A2801>.
- [164] Atkinson-Clement C, Pinto S, Eusebio A, Coulon O. Diffusion tensor imaging in Parkinson's disease: Review and meta-analysis. *NeuroImage Clin* 2017;16:98–110. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.07.011>.

- [165] Wen J, Samper-González J, Bottani S, Routier A, Burgos N, Jacquemont T, et al. Using diffusion MRI for classification and prediction of Alzheimer's disease: a reproducible study. *Alzheimers Dement* 2018;14:P891–2. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.06.1144>.
- [166] Song S-K, Sun S-W, Ramsbottom MJ, Chang C, Russell J, Cross AH. Dysmyelination revealed through MRI as increased radial (but unchanged axial) diffusion of water. *NeuroImage* 2002;17:1429–36.
- [167] Wang LH, Bucelli RC, Patrick E, Rajderkar D, Alvarez III E, Lim MM, et al. Role of magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and electroencephalogram in diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol* 2013;260:498–506. <https://doi.org/10.1007/s00415-012-6664-6>.
- [168] Gipson TT, Poretti A, Kelley SA, Carson KA, Johnston MV, Huisman TAGM. Characterization of the Basal Ganglia Using Diffusion Tensor Imaging in Children with Self-Injurious Behavior and Tuberous Sclerosis Complex. *J Neuroimaging* 2019;jon.12628. <https://doi.org/10.1111/jon.12628>.
- [169] Sharma KR, Sheriff S, Maudsley A, Govind V. Diffusion tensor imaging of basal ganglia and thalamus in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroimaging Off J Am Soc Neuroimaging* 2013;23:368–74. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6569.2011.00679.x>.
- [170] Nagae LM, Honce JM, Tanabe J, Shelton E, Sillau SH, Berman BD. Microstructural Changes within the Basal Ganglia Differ between Parkinson Disease Subtypes. *Front Neuroanat* 2016;10:17. <https://doi.org/10.3389/fnana.2016.00017>.
- [171] Pelizzari L, Laganà MM, Di Tella S, Rossetto F, Bergsland N, Nemni R, et al. Combined Assessment of Diffusion Parameters and Cerebral Blood Flow Within Basal Ganglia in Early Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci* 2019;11:134. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00134>.
- [172] Roebroek A, Miller KL, Aggarwal M. Ex vivo diffusion MRI of the human brain: Technical challenges and recent advances. *NMR Biomed* 2019;32:e3941. <https://doi.org/10.1002/nbm.3941>.
- [173] Rane S, Duong TQ. Comparison of in vivo and ex vivo diffusion tensor imaging in rhesus macaques at short and long diffusion times. *Open Neuroimaging J* 2011;5:172–8. <https://doi.org/10.2174/18744440001105010172>.
- [174] Seehaus A, Roebroek A, Bastiani M, Fonseca L, Bratzke H, Lori N, et al. Histological validation of high-resolution DTI in human post mortem tissue. *Front Neuroanat* 2015;9:98. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00098>.

Toulouse, 2019

NOM : CHAUVELOT

PRENOM : MADELEINE

TITRE : Le modèle ovin en neuroimagerie translationnelle : réalisation d'un atlas IRM 2D et étude de faisabilité de l'Imagerie du Tenseur de Diffusion quantitative de l'encéphale du Mouton.

RESUME : Le modèle ovin est de plus en plus utilisé en neurosciences comme modèle d'étude de différentes maladies neurologiques humaines. Du fait de la grande taille de son encéphale, il est possible de réaliser les examens d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) de ces modèles ovins avec les mêmes scanners que ceux utilisés en médecine humaine, facilitant ainsi la transposition des biomarqueurs d'imagerie du modèle animal au patient humain. L'imagerie du tenseur de diffusion (DTI pour *Diffusion Tensor Imaging* en anglais) est une technique de neuroimagerie issue de l'IRM qui permet une évaluation non-invasive de l'intégrité structurale d'un tissu en mesurant la diffusion des molécules d'eau. Deux paramètres extraits de la DTI, la fraction d'anisotropie (FA) et la diffusivité moyenne (MD pour *Mean Diffusivity* en anglais) sont sensibles aux lésions de la substance grise et de la substance blanche. Dans ce contexte, les objectifs de cette thèse étaient : (i) de réaliser un atlas IRM 2D de l'encéphale du Mouton et (ii) d'évaluer la faisabilité de la DTI dans cette espèce avec un scanner IRM 3.0 Tesla. Une séquence pondérée en T1, une séquence pondérée en T2 et une séquence DTI ont ainsi été réalisées *ex vivo* sur l'encéphale de cinq moutons sains. Les images T1 et T2 ont été utilisées pour la réalisation de l'atlas. La séquence DTI a été conçue pour garantir la meilleure qualité d'image possible tout en maintenant un temps d'examen raisonnable pour une utilisation ultérieure *in vivo*. La FA et la MD ont été calculées au sein de quatre régions d'intérêt (noyau caudé, putamen, globus pallidus, hippocampe) dont l'identification a été permise grâce aux images pondérées en T1 et T2. Cette étude montre que l'utilisation *ex vivo* de la DTI sur encéphale de Moutons est possible, et ouvre ainsi la voie à de futures études de neuroimagerie translationnelle utilisant le modèle ovin.

MOTS-CLES : IRM, DTI, atlas, mouton, cerveau

TITLE : The ovine model in translational neuroimaging : performing a 2D MRI atlas and feasibility study of quantitative Diffusion Tensor Imaging of the sheep brain.

ABSTRACT : The ovine model is becoming more and more popular in neuroscience in order to study different human neurological diseases. Due to the ovine's large brain, it is possible to conduct MRI studies on these models using the same scanners as those for humans. This facilitates the ability to transpose imaging biomarkers from the animal model to the human patient. Diffusion Tensor Imaging (DTI), a MRI-derived neuroimaging technique, allows for a noninvasive evaluation of the structural integrity of a tissue by measuring the diffusion of water molecules. Fractional Anisotropy (FA) and Mean Diffusivity (MD) are DTI-derived tensor metrics that are sensitive to lesions of the white and grey matter. In this context, the objectives of this thesis were (i) to create a 2D MRI atlas of the sheep brain and (ii) to evaluate the feasibility of performing DTI of the ovine brain using a 3.0 Tesla MRI scanner. T1- and T2- weighted sequences as well as DTI were conducted *ex vivo* on brains from five healthy sheeps. Both T1- and T2-weighted images were used in order to build the atlas. The DTI sequence was conceived to guarantee the best possible image quality whilst maintaining a reasonable study time in order to be further used *in vivo*. Both FA and MD were calculated in four different regions of interest (caudate nucleus, putamen, globus pallidus, hippocampus) which had been identified on T1- and T2-weighted images. This study demonstrates the feasibility of performing *ex vivo* DTI of the sheep brain and therefore opens the door to future translational neuroimaging studies using the ovine model.

KEY WORDS : MRI, DTI, atlas, sheep, brain