



Modèles animaux en expérimentation



Pr Jean-Claude Desfontis

Unité de Physiopathologie Animale et Pharmacologie
Fonctionnelle (UPSP 5304)

Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

Plan

- Définition et objectifs
- Qualités d'un modèle
- Limites d'un modèle
- Stratégie de choix d'un modèle

Définition

Définition du Modèle animal :

(American National Research Council Committee on Animal Models for Research and Aging)

En recherche biomédicale, un modèle animal est un modèle permettant

- l'étude des données de référence sur la biologie ou le comportement,
- ou chez lequel on peut étudier un processus pathologique spontané ou induit, celui-ci ayant un ou plusieurs aspects communs avec un phénomène équivalent chez l'humain ou d'autres espèces animales.

Définition

Quels rôles précis les organismes modèles ont-ils dans la recherche médicale et biologique ?

Organisme exemplaire :

Sert un but de connaissance qui ne vaut pas seulement pour sa propre espèce mais pour d'autres

- *En recherche médicale* : l'animal est pris comme modèle d'une pathologie humaine
- *En recherche biologique* : étude d'*E. coli* par exemple a permis de découvrir le code génétique qui est quasi-universel

Organisme outil :

Utiliser l'animal comme champ d'essai pour des interventions diverses (ex : criblage de molécules en phase pré-clinique)

Objectifs

- Recours limité aux études sur l'homme :
 - ◆ Légalité
 - ◆ Raison d'éthique
- Nécessité de modèles animaux
 - ◆ Besoin d'investigations plus poussées dans des conditions de laboratoires contrôlées
 - ◆ Recherche des mécanismes physiopathologiques
 - ◆ Essais de nouvelles méthodes diagnostiques ou thérapeutiques

Classification

- Modèles naturels (spontanés)
- Modèles expérimentaux
- Modèles génétiquement modifiés
- Modèles négatifs
- Modèles orphelins

Modèles naturels (spontanés)

- Maladies ou conditions présentes naturellement chez les animaux et identiques à des maladies ou affections humaines.
- Maladies ou affections souvent associées à des mutations naturelles conduisant à des désordres similaires à ceux décrits dans l'espèce modélisée (homme).

Modèles naturels (spontanés)

■ Exemples :

- ◆ Rat brattleboro : diabète insipide neurogène
- ◆ Rat SHR : hypertension artérielle essentielle
- ◆ Lapin Watanabe : hypercholestérolémie
- ◆ Lapin Weinstock : faible sensibilité baroréflexe
- ◆ Gerbilles atteintes d'épilepsie
- ◆ Souris SCID : immunodéficiência combinée sévère
- ◆ Une des plus grandes collections de modèles animaux chez la souris est hébergée par le laboratoire Jackson (<http://www.jax.org>)

Modèles expérimentaux

- Modèles chez lesquels les scientifiques reproduisent expérimentalement une affection ou une maladie.
- Organismes animaux « normaux » soumis à des actes chirurgicaux et/ou toutes autres interventions (diète, administration de médicaments ou d'agents infectieux) susceptibles d'engendrer un état physiologique anormal.

Modèles expérimentaux

■ Exemples :

◆ Chirurgie

- ☞ Hypertension rénale (uninéphrectomie)
- ☞ Hypertension neurogène (dénervation sino-aortique)
- ☞ Insuffisance cardiaque (ligature coronaire)

◆ Administration de médicaments ou de substances chimiques

- ☞ Diabète de type I (streptozotocine, rat, lapin)
- ☞ Sympathectomie (guanéthidine, rat)

Modèles génétiquement modifiés

- Modèles expérimentaux dont le scientifique a manipulé le code génétique pour provoquer la maladie à étudier.
- Ces modèles permettent l'étude du fondement génétique de certaines maladies, la susceptibilité ou la résistance à celles-ci.
 - ◆ Exemples :
 - ☞ Insertion d'un ADN étranger
 - ☞ Remplacement (modèle knock-in) ou neutralisation de certains gènes (modèles knock-out)

- <http://www.taconic.com>

- <http://jaxmice.jax.org>

Modèles négatifs

- Animaux résistants à une affection ou maladie donnée.
- L'étude de la cause de cet état permet de trouver des données sur la résistance à la maladie et ses fondements physiologiques
 - ◆ Exemples :
 - ☞ Seules certaines espèces animales sont sensibles à certaines maladies infectieuses, les autres sont des modèles négatifs (lapin insensible à l'infection gonocoque ou chimpanzé très peu sensible à la maladie d'Alzheimer).

Modèles orphelins

- Affections apparaissant naturellement chez un animal et pour lesquelles il n'existe pas d'équivalent chez l'homme.

- ◆ Exemples :

- ☞ Autrefois, la tremblante du mouton

- Aujourd'hui, cette maladie constitue un modèle utile pour l'étude des encéphalopathies spongiformes humaines (ESB, maladie de la vache folle, maladie de Creutzfeld-Jacob)

Plan

- Définition et objectifs
- Qualités d'un modèle
- Limites d'un modèle
- Stratégie de choix d'un modèle

Qualités d'un modèle

- Meilleure analogie et pertinence possibles
 - 1- Modèle isomorphique (face validity) : Le modèle animal doit présenter des **symptômes identiques** à ceux de la pathologie humaine, malgré les différences anatomiques, physiologiques, ...
 - 2- Modèle homologue (construct validity) : La **connaissance des mécanismes** du modèle et de la pathologie permet une comparaison qui s'affine avec l'utilisation du modèle.

Qualités d'un modèle

- Meilleure analogie et pertinence possibles

3- Modèle prédictif (predictive validity) : La **réponse aux traitements** du modèle animal doit être similaire à celle de la pathologie humaine.

La **connaissance des causes** de l'affection humaine n'étant pas souvent possible, la comparaison est délicate et l'analogie difficile à établir.

Qualités d'un modèle

- Pas de modèle parfait
- C'est avec l'expérience qu'un modèle démontre sa pertinence et son analogie avec l'atteinte pathologique humaine
- Nécessité d'une validation selon les critères définis précédemment
- Nécessité d'adapter le modèle au cours du temps

Plan

- Définition et objectifs
- Qualités d'un modèle
- Limites d'un modèle
- Stratégie de choix d'un modèle

Limites d'un modèle

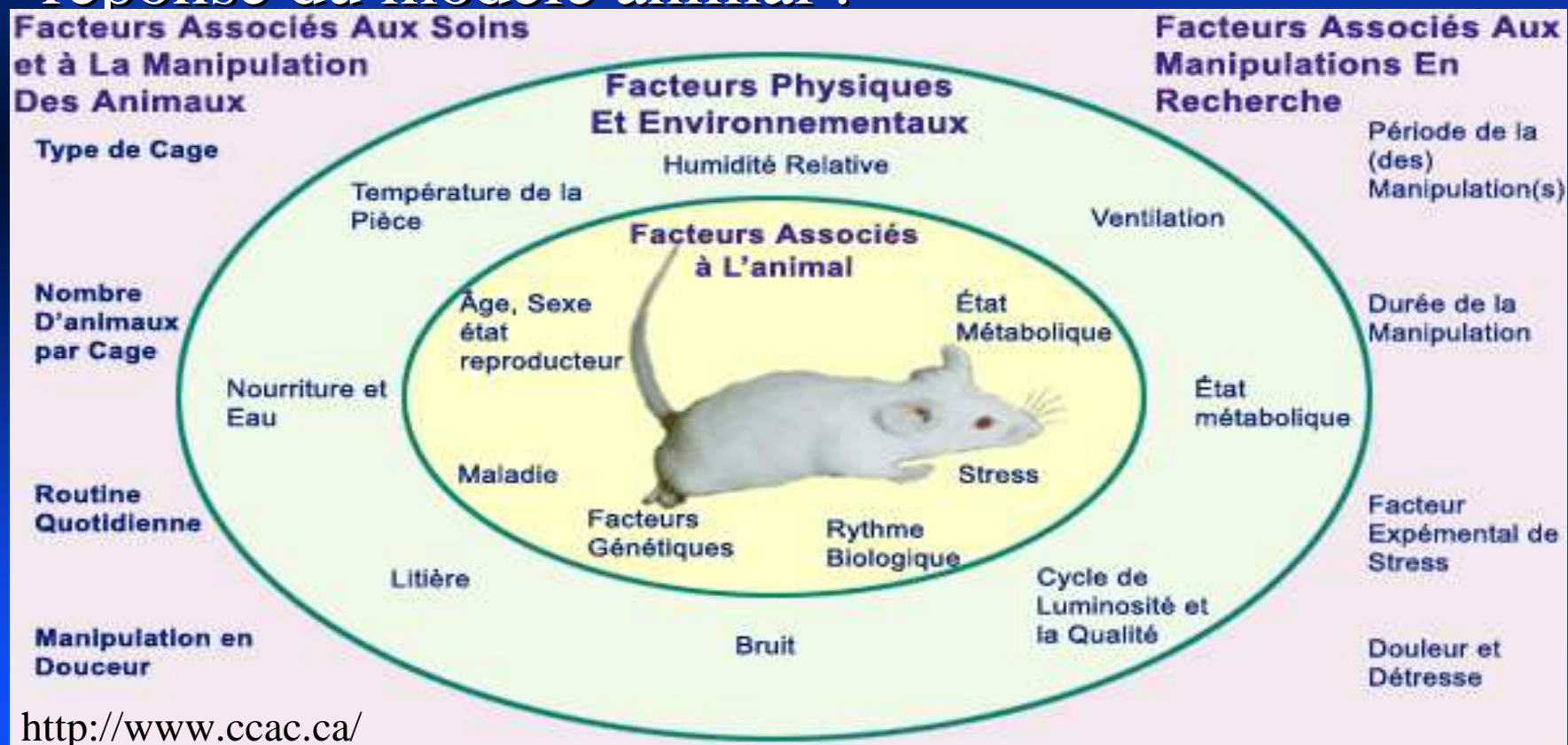
- Causes de la pathologie humaine, voir du modèle animal, souvent inconnues
- Analogie jamais parfaite (symptômes, réponse aux traitements)
- => Intérêt de croiser les résultats obtenus à partir de plusieurs modèles ?

Limites d'un modèle

- Connaissance indispensable de la biologie comparée et de la pathologie comparée des différentes espèces d'animaux de laboratoire
 - ◆ Anatomie
 - ◆ Physiologie
 - ◆ Aspects techniques de l'élevage
 - ◆ Hébergement
 - ◆ Médecine et chirurgie vétérinaire
 - ◆ Anesthésie
 - ◆ Techniques expérimentales

Limites d'un modèle

- Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal :



Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal

■ Facteurs liés à l'animal :

- ◆ Constitution génétique
- ◆ Age, sexe, état reproducteur, état métabolique, rythmes circadiens
- ◆ Flore microbienne
- ◆ Rythmes biologiques
- ◆ Présence de stress
- ◆ Maladies
- ◆ Infections latentes (subcliniques ou silencieuses)
- ◆ Affections liées au génotype (par ex, animaux immuno-déficients)

Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal

- Facteurs physiques et environnementaux :
 - ◆ Température ambiante
 - ◆ Humidité relative
 - ◆ Ventilation
 - ◆ Eclairage (intensité, longueur d'onde, photopériode)
 - ◆ Bruit
 - ◆ Aliments et eau
 - ◆ Litière

Humidité relative < 40 %

Normes 55 ± 15 %

QuickTime™ et un
décompresseur TIFF (LZW)
sont requis pour visionner cette image.

<http://www.ccac.ca/>

Eclairage

QuickTime™ et un
décompresseur TIFF (LZW)
sont requis pour visionner cette image.

<http://www.ccac.ca/>

Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal

- Facteurs liés aux soins et à la manipulation :
 - ◆ Stress chez l'animal
 - ◆ Stress dû au transport
 - ◆ Taille des cages et densité des animaux
 - ◆ Enrichissement du milieu
 - ◆ Soins de routine et manipulation

Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal

- Facteurs associés aux manipulations de recherche :
 - ◆ Manipulations des animaux
 - ◆ Anesthésie (durée, profondeur, confort)
 - ◆ Analgésie
 - ◆ Type d'intervention (chirurgicale, pharmacologique, chimique, ...)
 - ◆ Température corporelle
 - ◆ Suivi et soins post-opératoires (nursing)

Limites d'un modèle

- Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal :

Nécessité de rédiger et suivre

- ◆ des procédures validées
- ◆ de manière rigoureuse
- ◆ de manière reproductible

Plan

- Définition et objectifs
- Qualités d'un modèle
- Limites d'un modèle
- Stratégie de choix d'un modèle

Stratégie de choix d'un modèle

- Objectif scientifique
- Espèce animale
- Approche expérimentale (de la cellule à l'animal entier)

Objectif scientifique

- description d'un phénomène biologique normal ou anormal
- mise en évidence des mécanismes et des déterminismes mis en jeu dans un phénomène biologique
- évaluation prédictive de l'efficacité et/ou de la sécurité de futurs médicaments

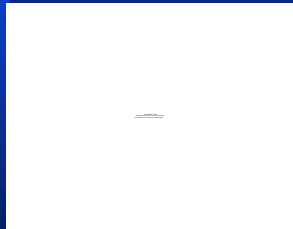
Stratégie de choix d'un modèle

- Objectif scientifique
- Espèce animale
- Approche expérimentale (de la cellule à l'animal entier)

Espèce animale

- Vertébré vs non vertébré
 - ◆ Modèles non vertébrés => données fondamentales
 - ◆ Plus éthique
 - ◆ *E. coli*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Xenopus tropicalis*
- Vertébré supérieur vs non supérieur
 - ◆ Favoriser l'espèce la moins avancée dans le processus d'évolution
 - ◆ Primates non humains les plus pertinents pour l'étude des maladies infectieuses humaines

Exemples d'espèces



Escherichia coli



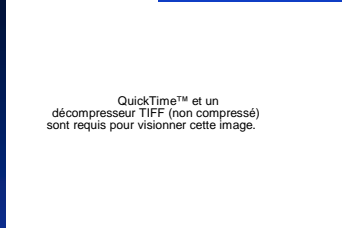
Mus musculus



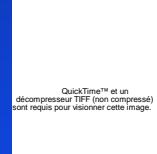
Caenorhabditis elegans



Porc



Drosophila melanogaster



Chien



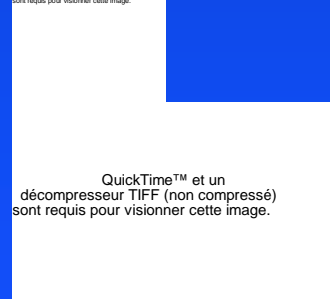
Xenopus tropicalis



Chat



Poisson



Primates

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (LZW) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (LZW) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

Stratégie de choix d'un modèle

- Objectif scientifique
- Espèce animale
- Approche expérimentale (de la cellule à l'animal entier)

Approche expérimentale (de la cellule à l'animal entier)

- In vitro vs in vivo
- Anesthésié vs vigile
- Invasif vs non invasif

In vitro vs in vivo

■ Approche *in vitro* :

◆ *Avantages* :

- ☞ Analyse fine des interactions au niveau cellulaire et moléculaire (affranchissement des boucles de régulation physiologiques)
- ☞ Facilité dans la modélisation mathématique des résultats expérimentaux (faible nombre de paramètres biologiques à prendre en compte)
- ☞ Réduction possible du nombre d'animaux utilisés (multiplication du nombre de fragments d'organe prélevés sur un même animal)
- ☞ Très bonne reproductibilité des résultats
- ☞ Possibilité de d'évaluer plusieurs protocoles expérimentaux sur un même organe ou fragment d'organe (série de doses, différentes conditions expérimentales consécutivement)
- ☞ Peut éviter l'utilisation d'animaux de laboratoire quand les prélèvements sont réalisés à l'abattoir

In vitro vs in vivo

- Approche *in vitro* :

- ◆ *Inconvénients* :

- ☞ Toujours invasif
 - ☞ Nécessité d'une grande maîtrise technique pour assurer la survie des organes et conserver une réactivité reproductible dans le temps
 - ☞ Aboutit automatiquement à la mort de l'animal

In vitro vs in vivo

■ Approche *in vivo* :

◆ *Avantages* :

- ☞ Prise en compte de l'animal dans son intégralité en respectant les boucles de régulation physiologiques
- ☞ N'aboutit pas automatiquement à la mort de l'animal (méthodes non invasives)

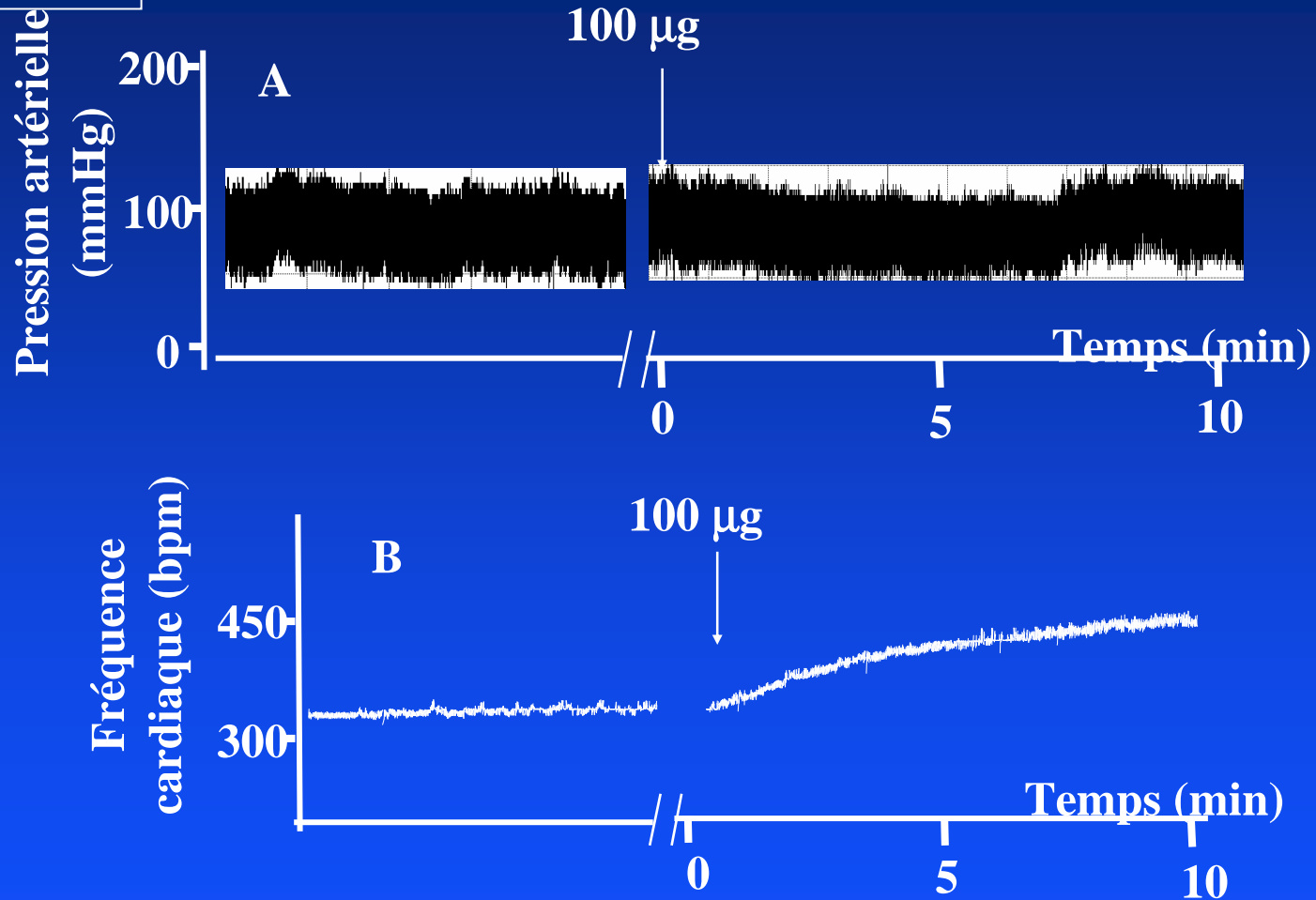
◆ *Inconvénients* :

- ☞ Nécessité de maîtriser les effets délétères chez les animaux utilisés dans les modèles de pathologie expérimentale
- ☞ Plus grande variabilité dans les résultats expérimentaux
- ☞ Réduction difficile du nombre d'animaux utilisés (un seul résultat expérimental est obtenu par animal)

In vivo vs in vitro, ex-vivo

Effets vasculaires du CGP 12177 : comparaison de trois approches expérimentales

Approche *in vivo*

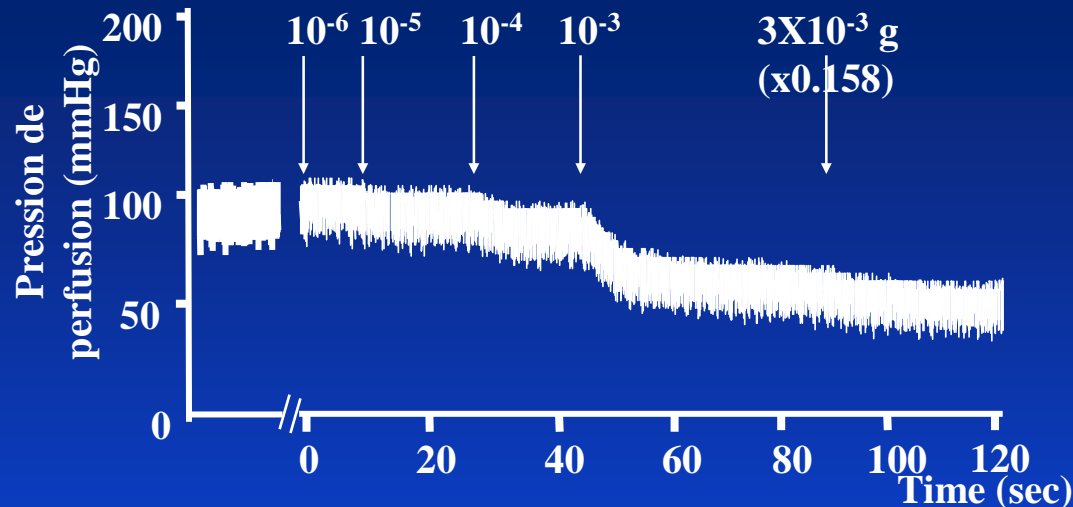


Tracés expérimentaux représentatifs de l'effet du CGP 12177 sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) chez le rat WKY vigile.

In vivo vs in vitro, ex-vivo

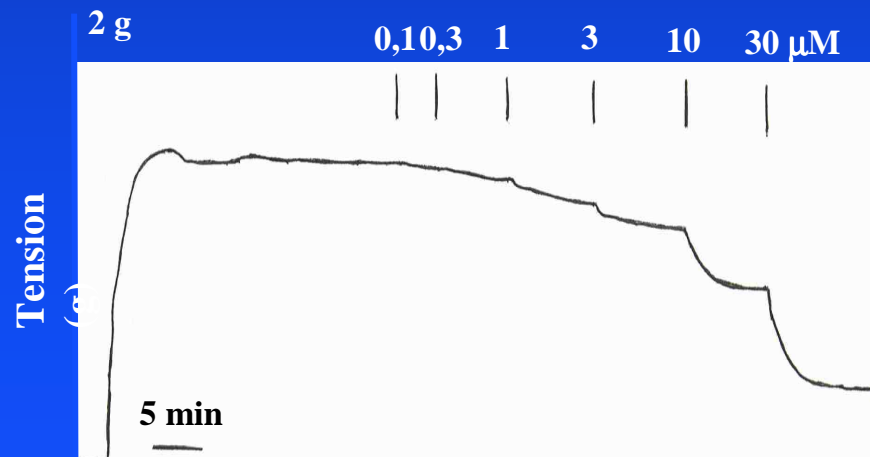
Effets vasculaires du CGP 12177 : comparaison de trois approches expérimentales

Approche *ex-vivo*



Tracé expérimental représentatif des effets vasodilatateurs induits par le CGP 12177 dans le train postérieur chez le rat WKY.

Approche *in-vitro*



Tracé expérimental représentatif des effets vasodilatateurs induits par le CGP 12177 dans l'aorte de rat WKY.

Anesthésié vs vigile

■ Animal anesthésié :

◆ *Avantages :*

- ☞ Absence de motricité de l'animal
- ☞ Absence de réaction consciente de l'animal
- ☞ Réactions neurovégétatives limitées
- ☞ Enregistrement possible de nombreux paramètres de manière invasive
- ☞ Assez bonne reproductibilité

◆ *Inconvénients :*

- ☞ Nécessité d'un choix raisonné de l'anesthésique (effets propres des anesthésiques)
- ☞ Interférence possible entre l'anesthésie ou l'anesthésique et les paramètres expérimentaux mesurés
- ☞ Mort de l'animal en fin d'expérience le plus souvent
- ☞ Suivi dans le temps le plus souvent impossible

Animal anesthésié vs vigile

■ Animal vigile :

◆ *Avantages* :

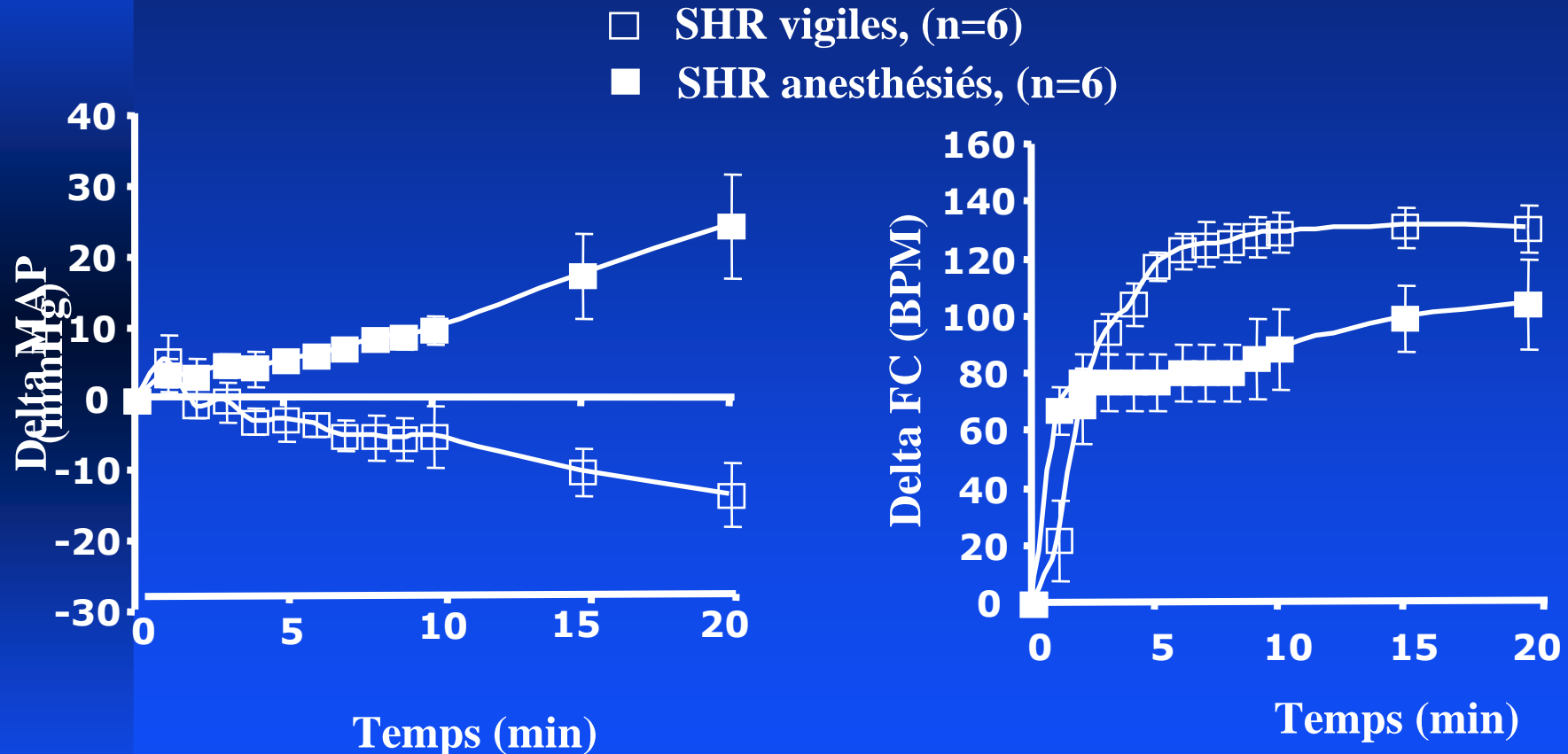
- ☞ Absence d'interférence entre la procédure expérimentale et les résultats expérimentaux
- ☞ Suivi dans le temps des paramètres
- ☞ Enregistrement possible à distance et sans intervention grâce aux implants télémétriques

◆ *Inconvénients* :

- ☞ Enregistrement très limité de paramètres de manière invasive
- ☞ Motricité volontaire de l'animal
- ☞ Plus grande variabilité dans les résultats expérimentaux
- ☞ Nécessité de maîtriser les effets délétères chez les animaux utilisés dans les modèles de pathologie expérimentale

Animal anesthésié vs vigile

Effets cardiovasculaires du CGP 12177 (50 µg/kg/i.v.) chez des rats spontanément hypertendus vigiles ou anesthésiés avec la kétamine-xylazine



Chez les rats vigiles, le CGP12177 induit un effet hypotenseur. Cet effet est inversé en réponse hypertensive lorsque les rats sont anesthésiés avec la kétamine-xylazine. Le CGP 12177 induit un effet chronotrope positif plus prononcé chez les rats vigiles.

Invasif vs non invasif

■ Invasif :

◆ *Avantages :*

- ☞ Grand nombre de paramètres enregistrés

◆ *Inconvénients :*

- ☞ Le plus souvent euthanasie de l'animal

■ Non invasif :

◆ *Avantages :*

- ☞ Plus éthique
- ☞ Peu de modification de l'animal
- ☞ Étude dynamique possible et suivi dans le temps
- ☞ Pas d'euthanasie de l'animal

◆ *Inconvénients :*

- ☞ Examens pouvant nécessiter une anesthésie
- ☞ Nombre de paramètres enregistrés limités
- ☞ Techniques lourdes et coûteuses (imagerie)

Conclusion

- √ Nombreux modèles diversifiés
- √ Modèles selon particularités d'espèces
- √ Apport de nombreuses données scientifiques pour les maladies humaines
- √ Limites dans l'interprétation et la transposition
- √ Quel avenir pour les organismes modèles?
cellularisation et molécularisation.....

Bibliographie

- <http://www.ccac.ca/fr>
 - ◆ Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation - Volume 1, 2ème édition 1993
(http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/PDFs/ExperimentalAnimals_GDL.pdf)
 - ◆ Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation - Volume 2 1984
(http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/PDFs/ExperimentalAnimalsV2_GDL.pdf)
 - ◆ Ensemble des lignes directrices
http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GDLINES/Guidelis.htm
- Handbook of laboratory animals - Animal models, 2003, Volume II, second edition, edited by Jann Hau & Gerald L. Van Hoosier, Jr., CRC Press.
- Organisations
 - ◆ ILAR (institut de recherche de l'animal de laboratoire)
 - ◆ NIH (institut de santé national)
 - ◆ AWIC (Centre d'information sur le bien-être animal)
 - ◆ ACLAM (Collège Américain de médecine des animaux de laboratoire)