

La physiologie des animaux de laboratoire

Etienne Roux

*Adaptation cardiovasculaire à l'ischémie INSERM U 1034
UFR des Sciences de la Vie Université Bordeaux Segalen*

contact: etienne.roux@u-bordeaux2.fr

utilisation des animaux pour la connaissance de l'anatomie et de la physiologie animale et humaine dès l'antiquité

science grecque et hellénistique

Aristote (IV^e siècle av. JC) : anatomie - physiologie comparée

Galien (III^e siècle ap. JC) : singe = modèle humain

science arabe médiévale

science occidentale

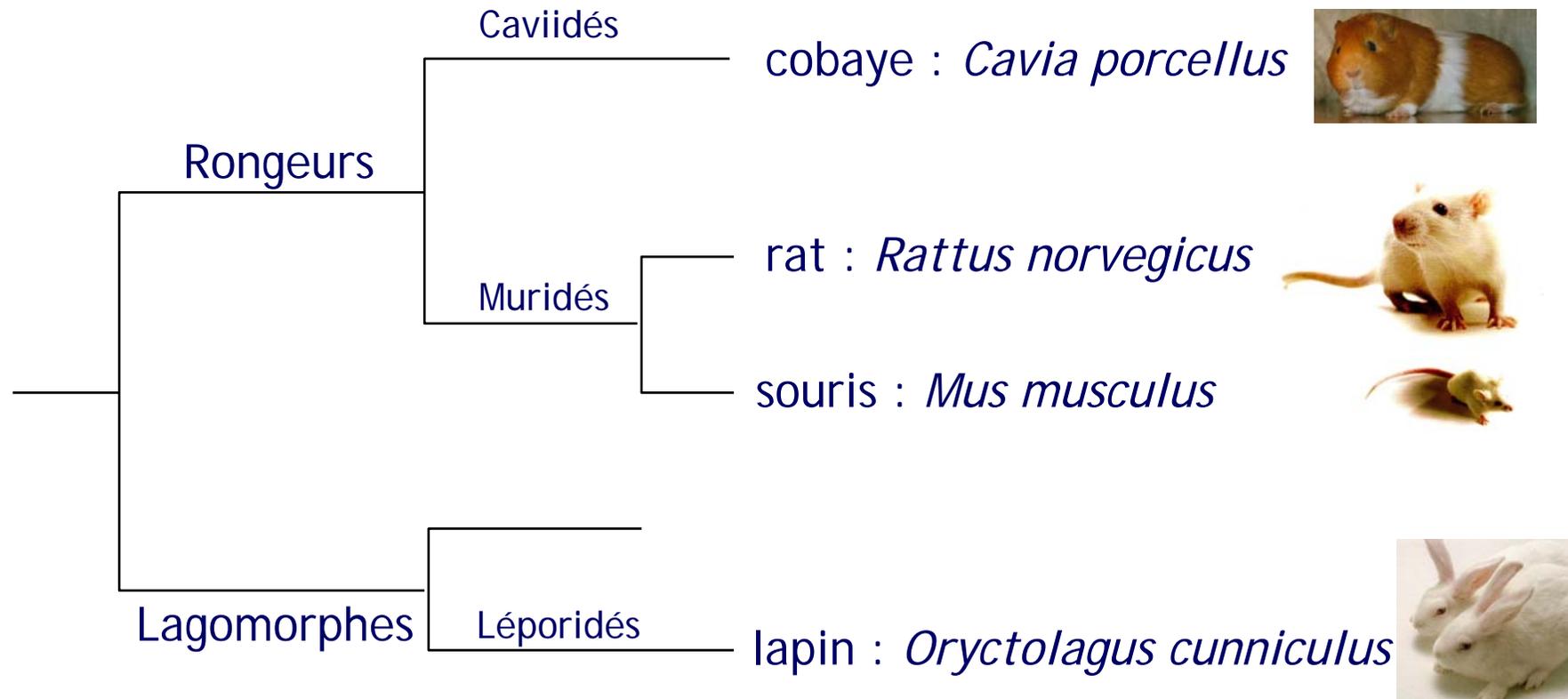
Claude Bernard : « introduction à la médecine expérimentale »

Animaux : modèles valides de la physiologie humaine, dans certaines limites

développement important de l'expérimentation animale à partir du XIX^e siècle

Rongeurs et lagomorphes

relations phylétiques



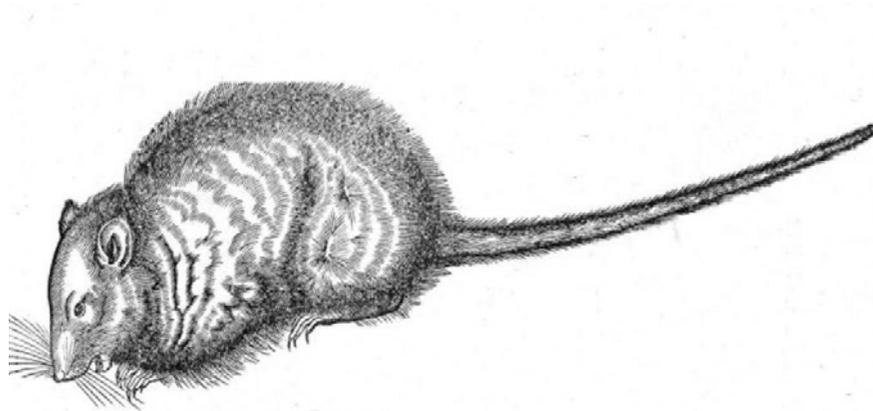
Le rat de laboratoire



le rat de laboratoire : correspond à l'espèce *Rattus norvegicus* = mulot, surmulot, rat brun, rat d'égout.

Origine de l'animal : originaire des plaines d'Asie centrale, probablement du Nord de la Chine et de la Mongolie actuelle. Apparition en Europe au XVIII^e siècle de manière attestée (Grande-Bretagne en 1730 ; France en 1735)

éventuellement présente dès le XVI^e siècle (illustrations d'un rat pouvant correspondre à *Rattus norvegicus* dans *Historia animalium* du naturaliste suisse Conrad Gesner de 1551)



le rat de laboratoire : correspond à l'espèce *Rattus norvegicus*
= mulot, surmulot, rat brun, rats d'égout.

utilisation comme animal de laboratoire

utilisation de rat albinos dès le début du 19e siècle pour des études physiologiques (1828, 1856, 1863)

Première souche de consanguins : souche PA, produit par le Wistar Institute à Philadelphie 1909.

Colonie de rats à tête noire au Jardin des Plantes installée en 1856 pour servir de nourriture aux reptiles. La souche PAR/Lou en dérive.

NB: ne pas confondre avec l'espèce *Rattus rattus*, appelé aussi rat noir, rat des champs, rat de grenier.

température corporelle : de 35,9° à 37,5°

fréquence cardiaque : 250 – 450 battements par minute
quantité de sang : 5– 7,5 % du poids corporel

fréquence respiratoire : 70 – 115 par minute

consommation de nourriture journalière moyenne : 10 g pour 100 g
de poids corporel

consommation d'eau aux journalières moyennes : 10 – 12 ml pour
100 g de poids corporel

durée de vie moyenne : 2 – 3,5 ans (max. : quatre ans)

femelle

poids de l'adulte : 250 – 300 g

âge de maturité sexuelle : 65 – 110 jours

durée de oestrus : 12 heures

oestrus post-partum : dans les 48 heures post-partum

durée de la gestation : 21 – 23 jours

mâles

poids de l'adulte : 450 – 520 g

âge de maturité sexuelle : 65 – 110 jours

vie reproductive : 350 – 440 jours

nouveau-nés

taille de la portée : 1 – 16 petits

(variations importantes en fonction de la souche)

poids la naissance : 5 – 6 g

âge moyen du sevrage : 25 jours

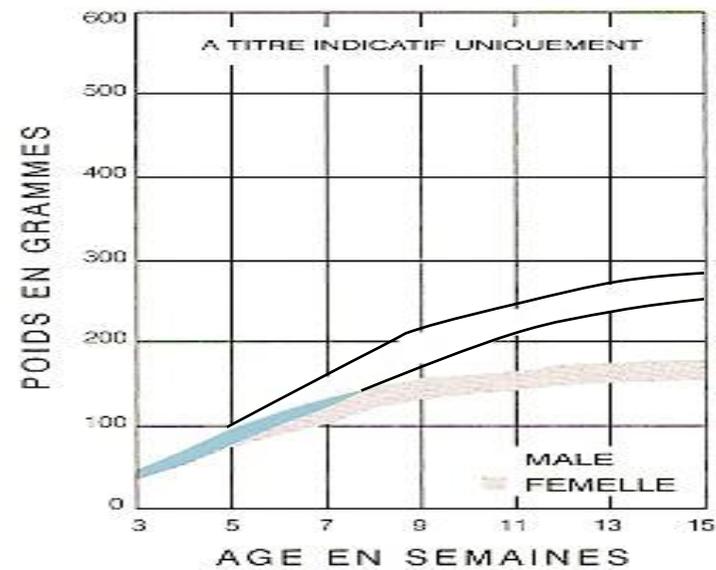
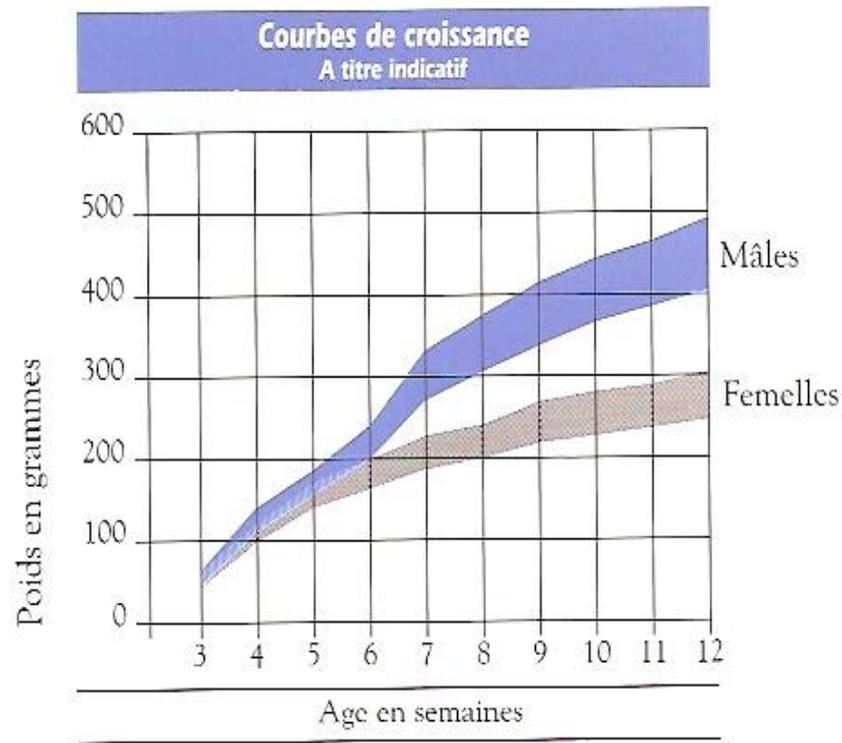
les petits commencent à consommer de la nourriture solide à environ 14 jours

Le rat de laboratoire

données physiologiques générales

Sprague-Dawley
(non consanguin)

Brown Norway
(consanguin)



apparition de la puberté

puberté chez le mâle

apparition du sperme : 20 – 30 jours après la naissance

descente testiculaire : J30 – J60

sperme testiculaire chez 100 % des animaux à J70

poids maximum des testicules à J70

sperme épидидymaire chez 100 % des animaux à J90

augmentation des récepteurs à la FSH dans les cellules de Sertoli

les niveaux hypothalamiques de GnRH continuent d'augmenter durant le développement postnatal et même à l'âge adulte

apparition de la puberté

puberté chez la femelle

maximum de production de FSH à J12

ouverture du vagin : J33 – J42

cycles oestriques réguliers : une semaine après l'ouverture du vagin

le cycle oestral

cycle oestral de 4 à 5 jours:
proestrus (PE), oestrus (E), dioestrus (D)

ovulation à la fin du proestrus

période réceptive : l'après-midi du proestrus – le matin de l'oestrus

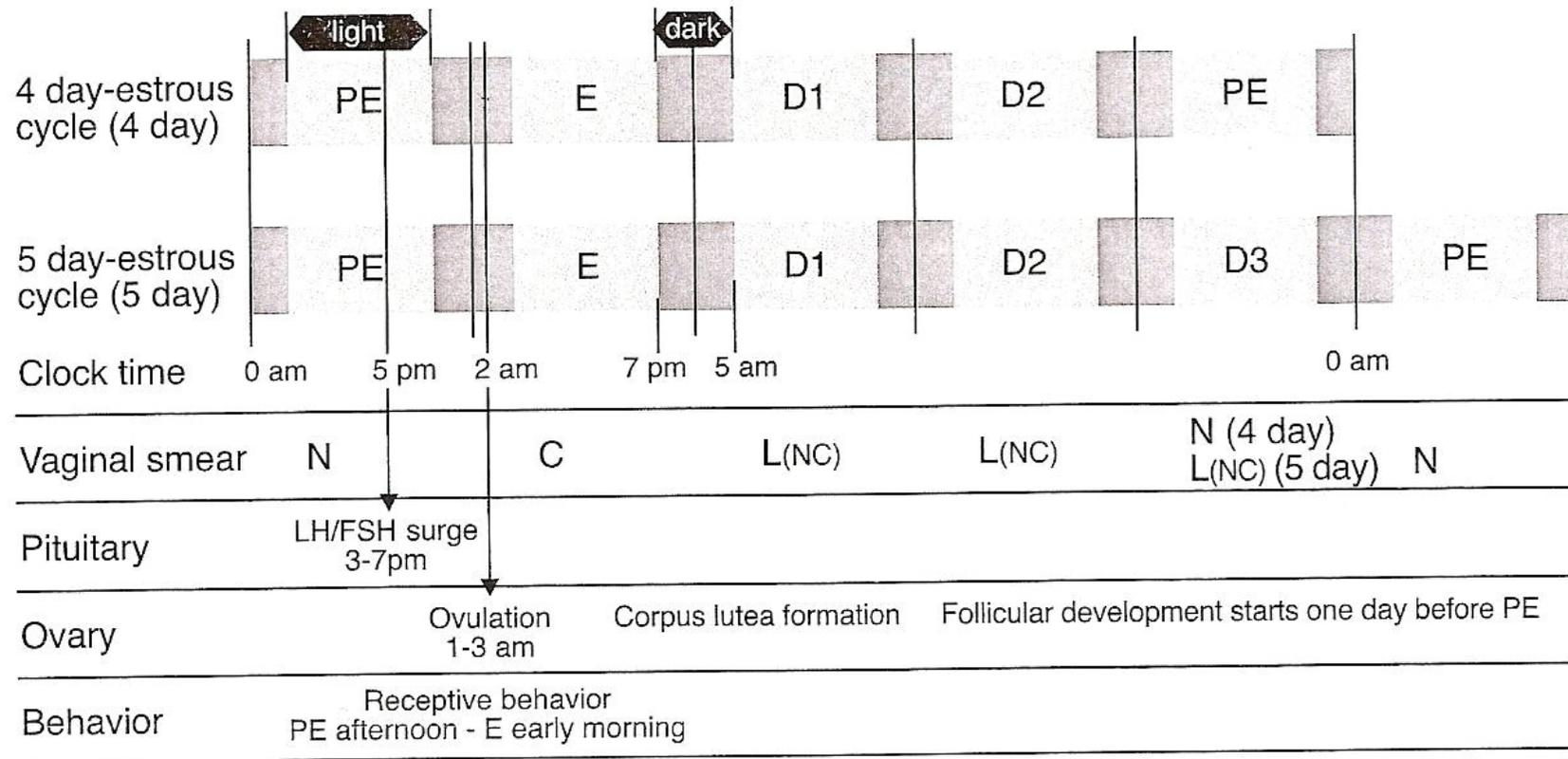
E-D1 : formation du corps jaune. Ne reste pas fonctionnel longtemps après l'ovulation.

gestation : CJ demeure fonctionnel par l'effet de la prolactine.

développement folliculaire : commence un jour avant le proestrus

identification du stade par frottis vaginal

le cycle oestral



La production hormonale suit le cycle jour – nuit

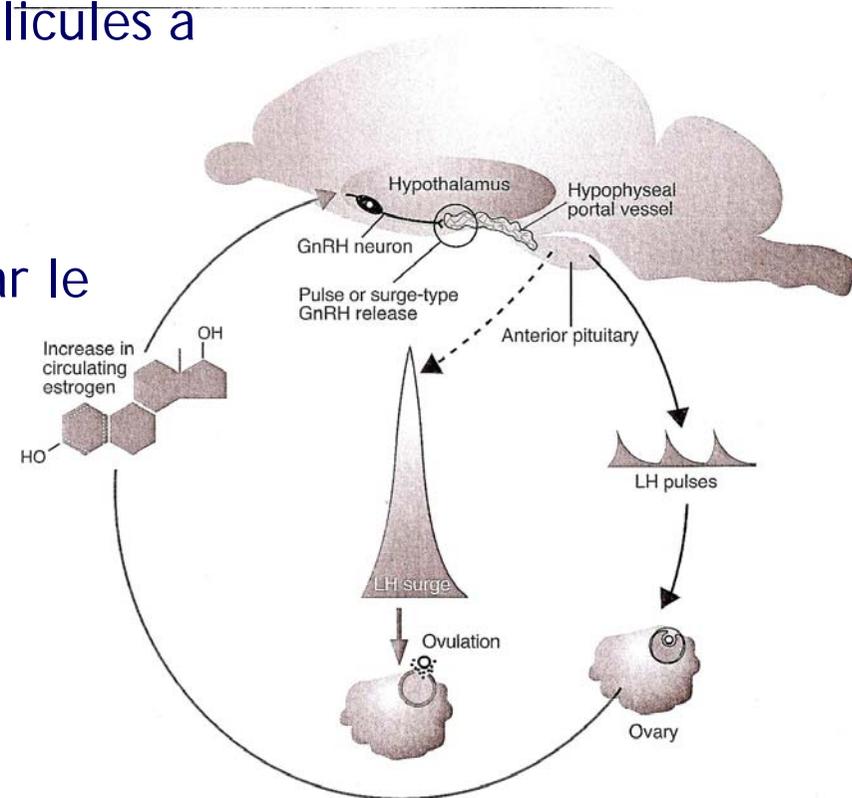
le cycle oestral

libération pulsatile de GnRH dans les vaisseaux hypophysaires → largage pulsatile de LH et de FSH.

La sécrétion d'oestrogène par les follicules a un effet de feed-back négatif sur la libération de GnRH/LH.

Un fort taux d'oestrogène sécrété par le follicule induit un pic de LH.

période critique : période durant laquelle une injection de pentobarbital bloque l'ovulation → période de libération de GnRH



le cycle oestral

maturation folliculaire

oogonies : donnent les oocytes par mitose puis méiose incomplète

formation d'un follicule primaire : 50 jours

maturation folliculaire finale : dans les trois jours précédant le pic de LH

ovulation entre minuit et deux heures du matin. Copulations multiples entre l'après-midi du prooestrus et le matin de l'oestrus.

déclenchement pharmacologique de l'oestrus :

10 mg de benzoate d'oestradiol

implant de 17- β -oestradiol + une injection de progestérone le matin.

le cycle oestral

Pseudogestation

Pseudogestation :

stimulation cervicale → activation du corps jaune → production de progestérone

statut de pseudogestation qui dure 12 à 14 jours

augmentation de sécrétion de prolactine après la stimulation cervicale.

La durée de vie du corps jaune lors de pseudogestation (12-14 jours) est équivalente à la durée de vie du corps jaune dans d'autres espèces de Mammifères.

régulation environnementale de l'axe gonadotrope

photopériode

relargage périodique de GnRH-LH

lumière constante pendant deux semaines : les femelles deviennent acycliques, avec oestrus persistant.

→ Les rates ovulent en réponse à la copulation (ou à la stimulation mécanique cervicale) comme chez le lapin et le chat (ovulation provoquée)

noir continu: les femelles ont un cycle normal (horloge circadienne du noyau suprachiasmatique)

régulation environnementale de l'axe gonadotrope

Nutrition

jeûne de deux jours : suppression du pic de LH → suppression de l'ovulation (par action de corticolibérine (CRH))

Stress

le stress supprime l'activité de l'axe gonadotrope. Immobilisation du rat → suppression des pics de LH

Lactation

la têtée, par le stimulus de succion, supprime la sécrétion de LH.

Gestation

copulation si femelle en proestrus et mâle ensemble pendant la nuit
si copulation, présence d'un bouchon vaginal.

L'implantation utérine au cinquième jour de gestation (rôle des oestrogènes maternels dans l'implantation)

gestation : production de progestérone par les ovaires, puis par le placenta dans la deuxième moitié de la gestation.

Structure de placenta

placenta discoïde, placentation hémochoriale.

parturition

J21 – J22 (usuellement de jour)

J21 :	37 %
nuit de J21 à J22 :	20 %
J22 :	42 %

déclenchement de la parturition

glucocorticoïdes foetaux : démontré chez les moutons et les chèvres
mais moins sûr chez le rat

prostaglandines

ocytocine (hypophysaire) : provoque les contractions utérines

relaxine sécrétée par le corps jaune : pic juste avant la parturition. La production de relaxine par le cerveau déterminerait le temps de la naissance

réflexe de Fergusson : distension du col de l'utérus → réponse neuroendocrinienne

ovulation post-partum

l'augmentation de LH au cours de la parturition entraîne une ovulation post-partum dans les 24 à 48 heures.

dépend du passage du foetus dans la filière pelvienne (distension du col de l'utérus)

réflexe de Fergusson : distension du col de l'utérus → réponse neuroendocrinienne

développement précoce de l'embryon

Trois heures après la copulation, fécondation de l'ovule par un spermatozoïde dans 90 % des cas.

→ fin de la méiose une heure après

Stade 2 cellules : 25 heures après l'accouplement

stade quatre cellules : 40 à 70 heures après l'accouplement (l'embryon atteint la partie distale de l'oviducte)

stade blastocyste : 80 à 110 heures après accouplement

implantation utérine : au cinquième jour de gestation

la lactation

6 paires de glandes mammaires, trois paires thoraciques et trois paires abdomino-inguinales

déclenchement hormonal de la production de lactose :

diminution de progestérone → prolactine, lactogènes (PL-I et PL-II)

→ augmentation de la synthèse de lactose

composition du lait de rate.

Lipides : 10,3 %

caséine : 6,4 %

autres protéines : 2 %

lactose : 2,6 %

minéraux : 1,3 %

maximum de production à J17 – J18 (30 g par jour)

éjection du lait :

réflexe d'éjection du lait provoqué par la succion (sécrétion d'ocytocine)

fonction gonadique durant la lactation

l'ovulation est bloquée chez le rat – comme dans de nombreuses autres espèces – le temps de la lactation (peu de production d'hormones gonadotropes)

présence d'un corps jaune de lactation. La prolactine maintient un taux de sécrétion de progestérone élevée.

Lorsque l'ovulation post-partum conduit à la fertilisation, l'embryon reste au stade blastocyste dans l'utérus tout le temps de la lactation (implantation retardée).

La sécrétion de LH est fortement diminuée durant la lactation.

Le rat de laboratoire

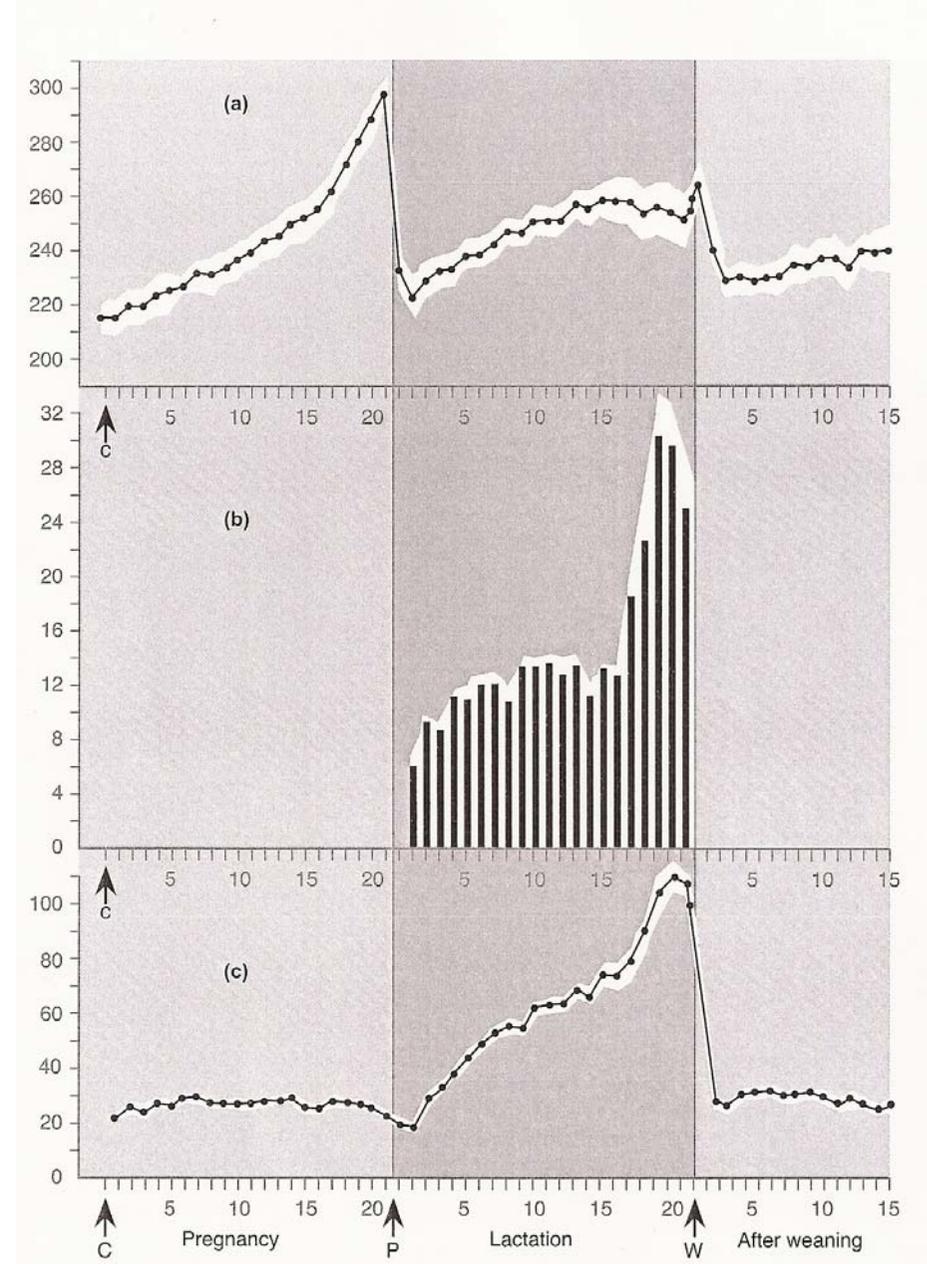
physiologie de la reproduction

variation de poids et de prise de nourriture durant la gestation-lactation

variation du poids de la mère (g)

gain de poids de la portée (g/j)

prise de nourriture de la mère (g/j)



le comportement reproducteur

Femelle

attractivité

proceptivité-réceptivité

proceptivité : montre la réceptivité

comportement de lordose : inflexion dorsale de la colonne vertébrale

Mâle

sensible à l'information olfactive : information par les phéromones

Vocalisation par ultrasons durant la reproduction

vocalisation à 50 kHz : mâles et femelles avant et pendant la copulation

vocalisation à 22 kHz : mâles après l'éjaculation pendant la période réfractaire.

La vocalisation de la femelle participe de son attractivité.

le comportement maternel

apparaît à la fin de la gestation

chez le mâle, et chez la femelle en dehors de la fin de la gestation, il n'y a pas de comportement maternel spontané.

Comportement maternel provoqué :

présentation à une femelle de nouveau-nés une à deux heures par jour pendant 5 à 6 jours

→ apparition d'un comportement maternel.

généralités

rats : animal grégaire, nocturne, omnivore, qui peut marcher, grimper, sauter et nager.

Information auditive, olfactive, tactile, et visuelle.

Comportement partiellement hérité, pouvant être modifié par l'apprentissage

comportement spontané / comportement modifié
différences individuelles, entre souche.

Stimulations ou inhibitions comportementales

manifestations comportementales de la douleur

douleur: due à l'expérimentation elle-même, ou aux effets secondaires

signes de douleur aiguë

- protection des parties corporelles douloureuses
- léchage de la zone douloureuse
- grattage de la zone douloureuse
- morsures de la zone douloureuse
- posture anormale
- vocalisation
- agitation
- position allongée

manifestations comportementales de la douleur

Signe de douleur chronique

- activité réduite
- dysurie
- fourrure mal entretenue
- diminution de la prise de nourriture
- diminution de la prise de poids

Effet systémique et signes associés

- activité réduite
- piloérection
- fermeture palpébrale
- diminution de la prise de nourriture
- diminution de la prise de poids

manifestations comportementales de la douleur

Examen général

analyse de la démarche : la démarche n'est modifiée que lors de dommage sensorimoteur important

réponse à la douleur : le pincement de la queue avec une pince provoque normalement un cri, un mouvement de défense ou de fuite de l'animal.

(Mise en jeu des voies réflexes de la douleur : récepteurs à la douleur, voie afférente vers le thalamus et le cortex sensoriel.)

Tests de réponse à la douleur quantifiable :

test de Randall-Sullito : pression d'une pointe sur la patte : mesures de la pression nécessaire exercée sur la pointe pour entraîner le réflexe de retrait de la patte

test de la queue : mesure du temps nécessaire au retrait de la queue soumise à une douleur thermique (plaque chauffante ou lampe)

modifications physiologiques en réponse au stress

caractéristiques du stress

mis en évidence de stress : Hans Selye (1907-1982)

travaux princeps sur le stress (1936, 1943) : modifications physiologiques non spécifiques en réponse à des stimuli tels que l'excitation émotionnelle, les drogues toxiques, les traumatismes et l'exercice musculaire épuisant...

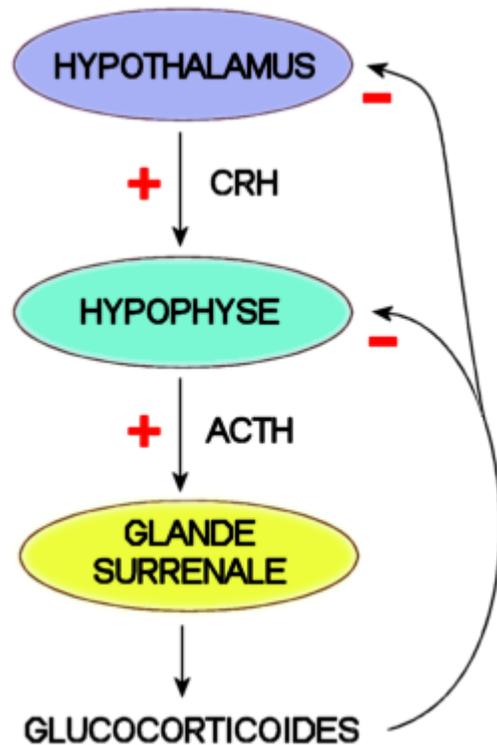
Syndrome de stress (ou syndrome général d'adaptation) :

- involution du thymus
- élargissement du cortex surrénalien
- sécrétion de phényléphrine par la médullosurrénale

modulation des systèmes des stéroïdes, des catécholamines, des peptides et des opioïdes

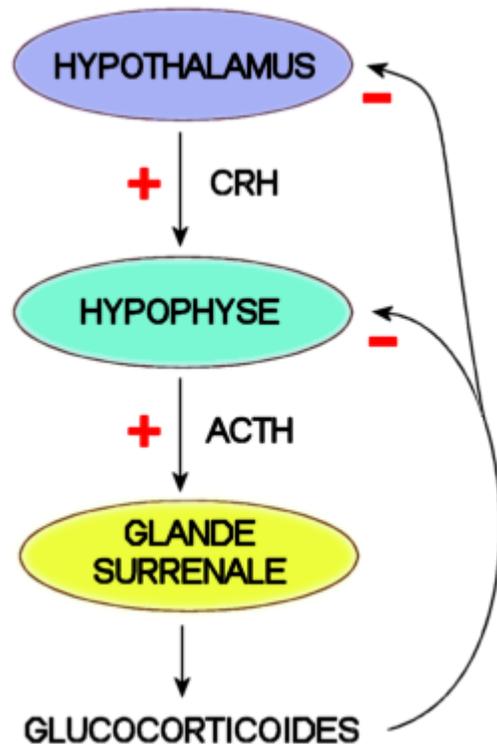
modifications physiologiques en réponse au stress

stress et axe hypothalamus hypophyse – surrénales



situation de stress → excitation de l'axe hypothalamus – hypophyse – corticosurrénale (HPA)

modifications physiologiques en réponse au stress



stress → augmentation rapide des ARNm de CRH.

Hormones de réponse au stress :
ACTH, prolactine (hypophyse)
corticostérone (minéralocorticoïdes)

minéralocorticoïdes: augmentent la sensibilité de l'axe HPA

glucocorticoïdes: inhibent la réponse de l'axe HPA au stress

Variations interindividuelles dans la réponse au stress ; influence du sexe et de l'âge

modifications physiologiques en réponse au stress

stress aigu ; stress chronique

Stress aigu

- augmentation des taux plasmatiques de corticostérones
- influence sur le système immunitaire
- augmentation du taux plasmatique de cholestérol

(l'éther est un activateur de l'axe HPA. Il augmente de la production de corticostérones, d'adrénaline et de noradrénaline.)

Une expérience de stress unique peut avoir des effets importants sur le comportement et la réponse ultérieure au stress

modifications physiologiques en réponse au stress

stress aigu ; stress chronique

Stress chronique

- hypertension
- déficit immunitaire
- dépression mentale

engendré par la répétition journalière de conditions de stress.

La répétition du stress engendre une habitude, avec une diminution de la réponse hormonale à chaque condition de stress, mais ceci dépend du type de facteurs de stress.

modifications physiologiques en réponse au stress

système digestif

possibilité d'induire un ulcère de stress par le froid, l'eau, les chocs et la restriction de la nourriture.

La restriction de la nourriture augmente l'effet des autres facteurs de stress sur la formation de l'ulcère de stress.

Les bases neuroendocriniennes de l'ulcère de stress restent confuses.

modifications physiologiques en réponse au stress

système cardio-vasculaire

stress au bruit :

- augmentation de la réponse à la stimulation cardiaque β -adrénergique
- augmentation de la densité des fibres sympathiques, associée éventuellement à des altérations mitochondriales.

- augmentation de la pression artérielle
- augmentation des taux plasmatiques de corticostéroïdes

Le stress aigu diminue le seuil de fibrillation cardiaque et augmente le risque d'ischémie cardiaque. Cependant, le stress par la chaleur protège contre les dommages induits par l'ischémie.

La souris de laboratoire



la souris de laboratoire : correspond à l'espèce *Mus musculus*

origine :

originaires d'Asie, probablement du nord de l'Inde.

Elle se répand dans le bassin méditerranéen 8000 av JC, et dans le reste de l'Europe 1000 ans av JC.

Première mention écrite de la souris dans un dictionnaire chinois datant de 1100 ans avJC.

La première souche de souris consanguines a été produite en 1909.

Le génome est séquencé en 2002 et consiste en 3000 Mb réparties sur 20 chromosomes. 23 786 gènes identifiés (hommes : 23 686).

souris transgéniques

Première souris clonée en 1998

température corporelle : de 37° à 37,2°

fréquence cardiaque : 310 – 840 battements par minute
moyenne : 600 battements par minute

fréquence respiratoire : 84 – 230 par minute
moyenne : 160 par minute

consommation de nourriture journalière moyenne : 12 – 18 g pour
100 g de poids corporel

consommation d'eau aux journalières moyennes : 15 ml pour 100 g
de poids corporel

durée de vie moyenne : 1 – 3 ans (max. : 4 ans)

femelle

poids de l'adulte : 18 – 25 g

âge de maturité sexuelle : 6 – 8 semaines

durée de oestrus : 10 heures

oestrus post-partum : dans les 24 heures post-partum

durée de la gestation : 19 – 21 jours

(varie avec la souche : C57BL/6 : 19 jours ; Balb/C : 20 jours)

moment de l'ovulation : 2 – 3 heures après le début de l'oestrus

mâles

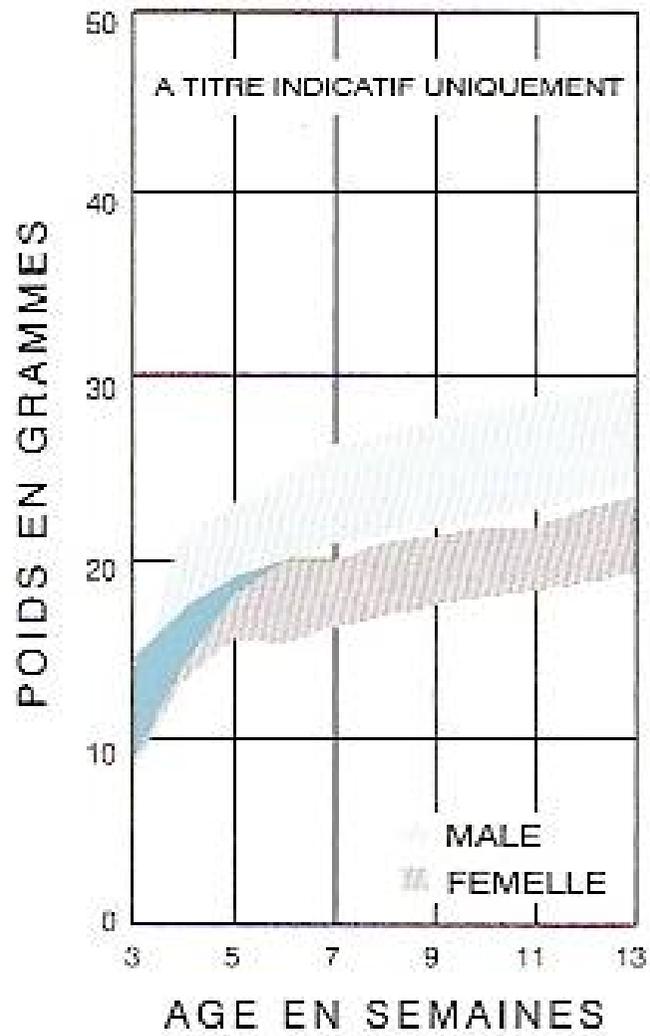
poids de l'adulte : 20 à 40 g

agit de la maturité sexuelle : quatre à six semaines

Nouveau-nés

taille de la portée : 3 – 14 petits

(6 – 8 en moyenne)



C57BL/6NCrI

éléments de la physiologie de la reproduction

le cycle oestral un dure de quatre à six jours.

oestrus < 1 jour.

Vocalisation de la part du mâle lors de l'accouplement : 30 à 111 kHz.

Après la copulation, formation d'un bouchon vaginal.

les jeunes naissent nus et aveugles

le cobaye de laboratoire : correspond à l'espèce *Cavia porcellus* (*Cavia cobaya*)

cobaye : mot provenant du latin zoologique, à partir du tupi-guarani, probablement par l'intermédiaire du portugais.

Origine de l'animal :

rongeur originaire des Andes, introduit en Europe au XVI^e siècle.

Domestiqué dans les Andes, dans la zone correspondant actuellement au Pérou, à la Bolivie et à l'équateur.

Première description de l'animal dans un écrit européen en 1547, à Saint-Domingue.

Première description zoologique par Conrad Gesner (*Historia animalium*).

Le cobaye



utilisation comme animal de laboratoire

Utilisé pour l'expérimentation animale depuis le XVII^e siècle : Marcello Malpighi, Carlo Fracassati

XVIII^e siècle : utilisé par Lavoisier en 1780 dans ses expériences sur la respiration

XIX^e siècle : utilisé par Louis Pasteur et Émile Roux

XX^e siècle l'utilisation importante dans la première moitié du XX^e siècle, avec un déclin progressif jusqu'à nos jours.

l'utilisation comme métaphore, en français et en anglais, pour désigner un sujet d'expérimentation, a été introduit dans la première moitié du XX^e siècle.

température corporelle : 38,5 à 39,9°

fréquence cardiaque : 220 – 380 battements par minute

fréquence respiratoire : 42 – 104 par minute

consommation de nourriture journalière moyenne : 10 g pour 100 g de poids corporel

consommation d'eau aux journalières moyennes : 10 ml pour 100 g de poids corporel

durée de vie moyenne : 4 – 8 ans

comportement : il n'y a pas de rythme circadien clairement identifié

Le cobaye

données physiologiques générales

femelle

poids de l'adulte : 750 – 900 g

âge de la maturité sexuelle : 2 – 3 mois ou 350 à 450 g de poids corporel

fréquence du cycle oestral : 15 à 17 jours

durée de l'oestrus : 1 – 16 heures, en moyenne 8

oestrus post-partum : 2 à 15 heures post-partum

durée de la gestation 59 à 72 jours (plus la portée nombreuse, plus la gestation est courte)

moment de l'ovulation : 10 heures après le début de l'oestrus

mâles

poids de l'adultes 900 – 1200 g

âge de la maturité sexuelle : 3 – 4 mois ou 600 à 700 g de poids corporel

Nouveau-nés

taille de la portée : 1 – 6 petits

poids à la naissance : 90 – 120 g

âge moyen au sevrage : 14 – 21 jours, où 150 – 200 g de poids corporel

les petits naissent avec les yeux et les oreilles ouvertes, une fourrure complète, et des dents.

capables de manger de la nourriture solide dès le 1er jour de vie
ingestion de nourriture solide au bout de quelques jours.

Les soins maternels pas absolument nécessaire pour la survie (en absence de soins maternels, 50 % de survie jusqu'à maturité)

essentiellement herbivores ; pratiquent la coecotrophie
ne synthétisent pas de vitamine C,

digestion de la cellulose par l'intermédiaire de la flore intestinale (flore intestinale anaérobie Gram-).

changement de nourriture, stress, antibiothérapie... → croissance rapide d'une flore bactérienne produisant des entérotoxines : *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *C. spiriforme*, plusieurs coliformes.

→ entérotoxémie : mort en quelques heures à quelques jours

Les cobayes sont très sensibles aux antibiotiques, et par conséquence, très peu d'antibiotiques peuvent être utilisés chez eux.

Le lapin



le lapin de laboratoire : correspond à l'espèce *Oryctolagus cuniculus*

le mot lapin, dans son sens populaire, désigne plusieurs espèces.
Le lapin de laboratoire = lapin européen (lapin domestique ou de garenne)

Origine de l'animal :

Originnaire de l'Europe du sud (péninsule ibérique). Première mention écrite chez les Phéniciens (1000 avJC).

Diffusion en Europe occidentale par les échanges humains depuis l'Antiquité jusqu'au moyen-âge (introduction dans les îles britanniques en 1066). Elevage depuis l'an 1000.

température corporelle : 38 à 40°

fréquence cardiaque : 130 – 325 battements par minute

fréquence respiratoire : 32 – 60 par minute

consommation de nourriture journalière moyenne : 5 g pour 100 g de poids corporel

consommation d'eau aux journalières moyennes : 5 –10 ml pour 100 g de poids corporel

durée de vie moyenne : 4 – 8 ans (max. 10 ans)

très prolifique (24 lapins introduits en Australie en 1959 → 600 M)

femelle

poids de l'adulte : 2 – 6 kg (dépend de la souche)

âge de la maturité sexuelle : 4 – 9 mois

(les lapins nains : maturité sexuelle plus précoce)

durée du cycle oestral : ovulation provoquée

pas d'oestrus post-partum

moment de l'ovulation : 10 à 13 heures après la copulation

durée de la gestation : 29 à 35 jours

mâles

poids de l'adultes : 2 – 5 kg (dépend de la souche)

âge de la maturité sexuelle : 5 – 9 mois

Nouveau-nés

taille de la portée : 1 – 6 lapereaux

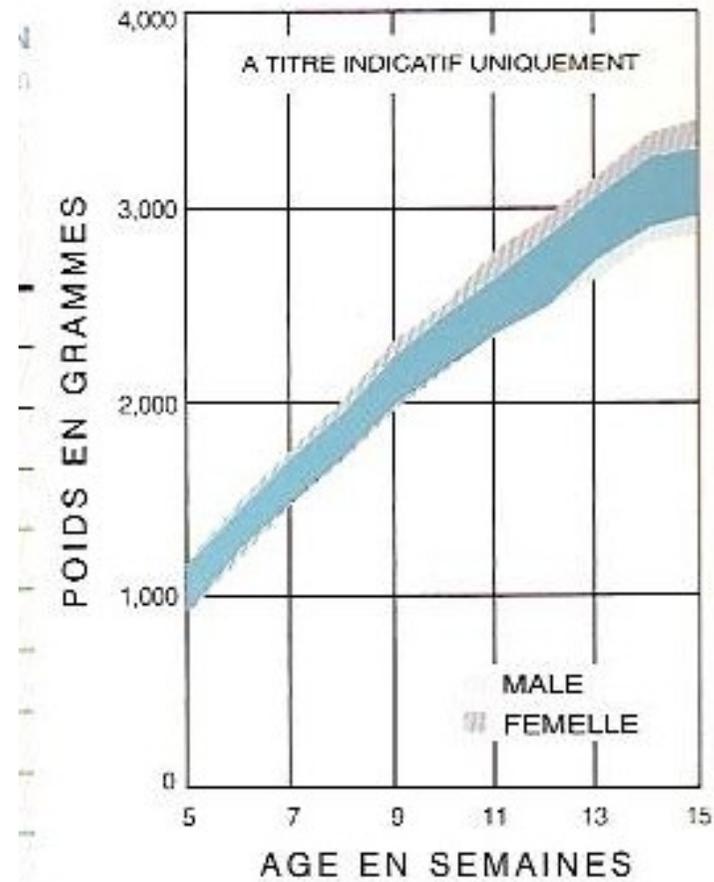
poids à la naissance : 90 – 120 g

âge moyen du sevrage : cinq à huit semaines

les petits sont immatures à la naissance : ils commencent à consommer de la nourriture solide à environ 21 jours.

Le lapin

données physiologiques générales



New Zealand White

en général des animaux timides, mais ils pouvant montrer des comportements de défense comme le fait de mordre, ou de charger le front de la cage.

animal très sensible au stress

Les lapins ont un squelette fragile (ne représente que 7 % du poids corporel total).

mauvaise contention → fractures de la colonne vertébrale

essentiellement herbivores ; mangent de petites quantités tout au long de la journée.

pratiquent la coecotrophie

digestion de la cellulose par l'intermédiaire de la flore intestinale (flore intestinale anaérobie Gram-).

changement de nourriture, stress, antibiothérapie... → croissance rapide d'une flore bactérienne produisant des entérotoxines : *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *C. spiriforme*, plusieurs coliformes.

→ entérotoxémie : mort en quelques heures à quelques jours

Les lapins sont très sensibles aux antibiotiques, en particulier à la pénicilline.