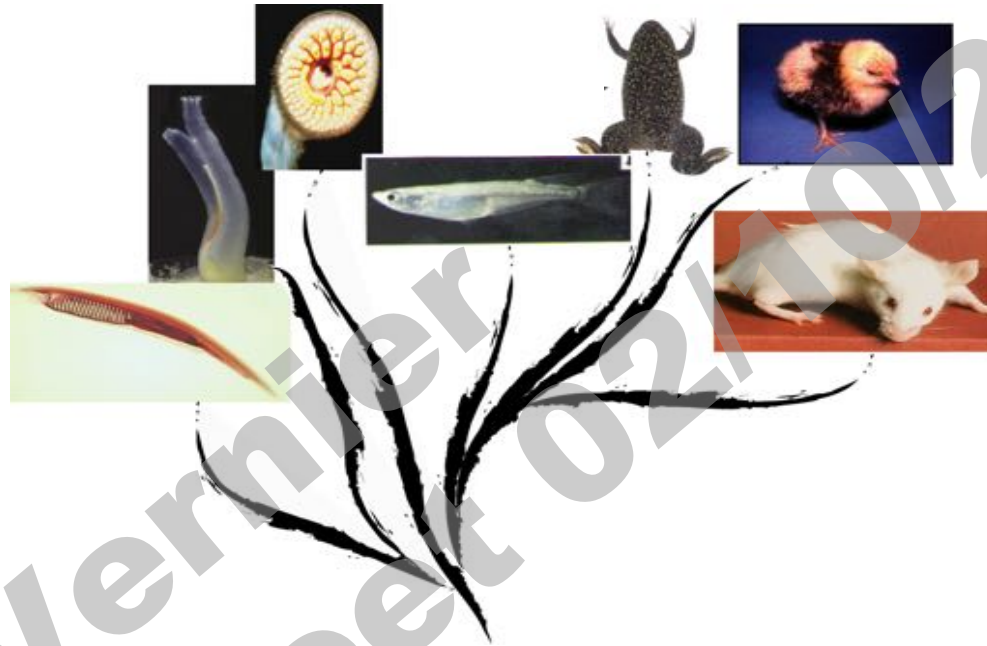


Animaux-modèles en Biologie et Médecine: Lesquels et pourquoi?



Philippe Vernier

Institut des Neurosciences Paris-Saclay UMR 9197,
CNRS, Université Paris-Sud, Gif-sur-Yvette - Orsay
vernier@inaf.cnrs-gif.fr

Biologie et Médecine: Deux conceptions du “MODELE”

Biologie: Comprendre le monde vivant.

- Observe, décrit et cherche à comprendre l'organisation du vivant
- Dégage les principes généraux du fonctionnement du vivant (traite du “général”)

→ **Animal modèle (archétype)**

Médecine: Connaître et comprendre la maladie pour la traiter.

- Du normal au pathologique
- Considère avant tout des individus (traite du “particulier”)

→ **Modèle animal (d'une pathologie)**

Biologie et Médecine: 2 conceptions du “MODELE”

Animaux-modèles (Biologie): Comprendre le monde vivant.

- Animaux “typiques”, “standardisés” d’ une espèce donnée
- Faciles à étudier et à manipuler expérimentalement.
- Modèles... à la condition que les observations faites sur cet organisme permettent d’extrapoler de comprendre des phénomènes similaires chez d’ autres organismes (l’ homme).

Modèles animaux (Médecine): Connaître et comprendre la maladie pour la traiter.

- Modèles ... pour étudier les causes et les mécanismes des maladies humaines.
- Modèles ...pour tester les traitements, de façon éthiquement acceptables, avant l’ utilisation chez l’ homme.

Hétérogénéité de la biologie et des approches du monde vivant

Naturalisme (descriptif /
patterns):

- Diversité biologique
- Phylogénie
- Biologie comparée et adaptation
- Ecologie

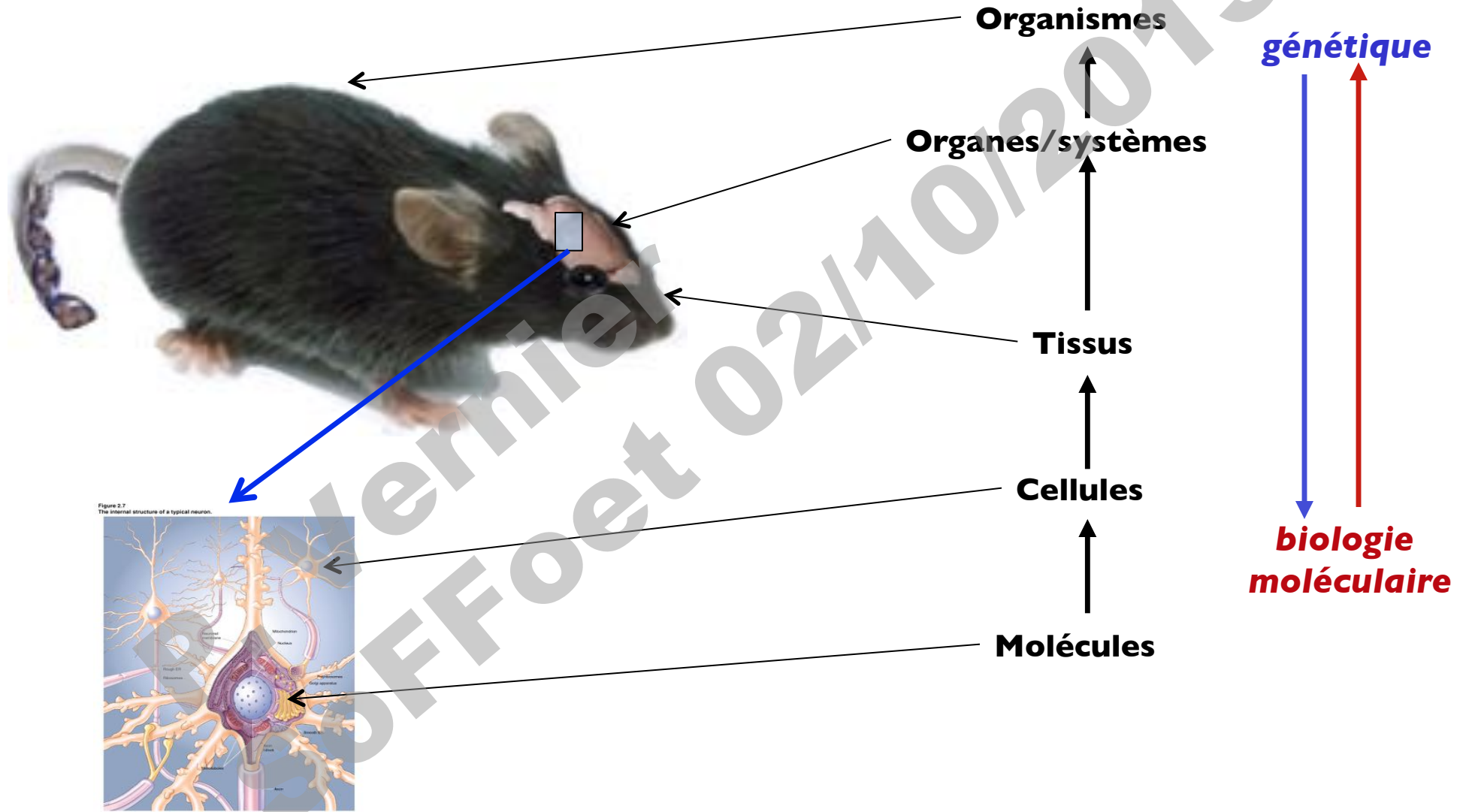
Populations

Expérimentalisme
(essentialiste/ processus):

- Mécanismes
- Physiologie
- Génétique
- Réductionnisme (biologie cellulaire et moléculaire)

Type/modèle

La question de l'organisation hiérarchique du vivant = Nécessité de l'animal-modèle et du modèle animal



Qu'est-ce qu'un animal modèle?

• Un animal-modèle appartient à une espèce sélectionnée pour pouvoir être utilisée couramment et facilement au laboratoire.

- ✓ Facile à faire reproduire (génétique)
- ✓ Facile à observer et à manipuler
- ✓ Facile à élever dans l'environnement humain



Les animaux modèles vivent dans un environnement proche de celui de l'espèce humaine

Principaux vertébrés “modèles”



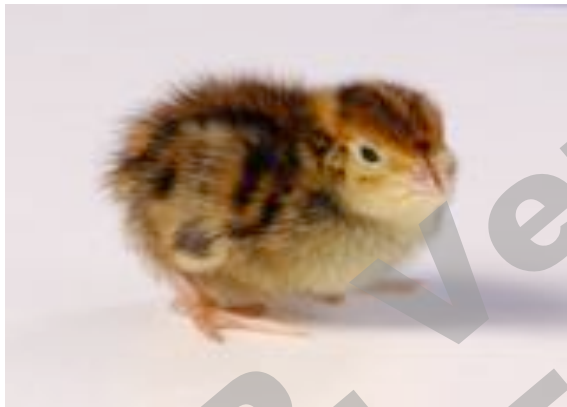
médaka
Oryzias latipes



danio
Danio rerio



xénope
Xenopus laevis



Poulet (caille)
Gallus gallus
Coturnix japonica



Souris/Rat
Mus musculus
Rattus norvegicus



Macaque (primates)
Macaca mulata

Non-vertébrés “modèles”



Nématodes

Caenorhabditis elegans



Ascidies (cione)

Ciona intestinalis



Mouche du vinaigre

Drosophila melanogaster



Annélides

Platynereis dumerilii

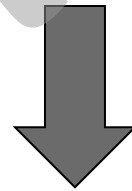


Oursins

Strongylocentrotus drobachiensis

Animaux modèles = animaux typiques? Pourquoi et comment comparer?

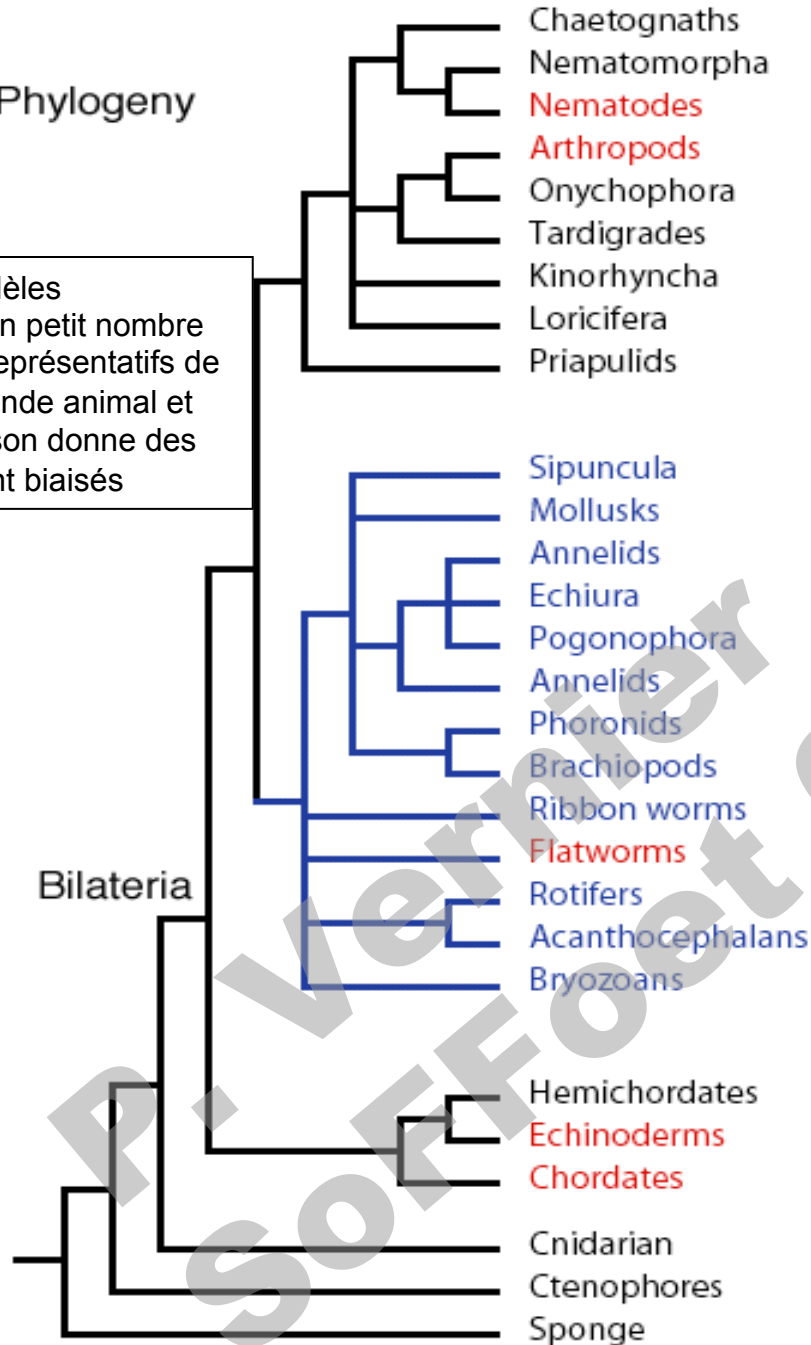
- ➔ Les comparaisons entre animaux ont un sens parce qu'ils partagent une origine phylogénétique commune.
- ➔ Les "ancêtres communs" ont divergé les uns des autres à des périodes différentes de l'évolution.
- ➔ Nécessité d'une approche phylogénétique et comparative (situation relative des différents "modèles" par rapport à l'homme).



une phylogénie des animaux-modèles

Metazoan Phylogeny

Les animaux modèles appartiennent à un petit nombre de groupes peu représentatifs de la diversité du monde animal et dont la comparaison donne des résultats fortement biaisés



Ecdysozoa

C. elegans
D. melanogaster

Mue (ecdysis),
Pas de cils locomoteurs
Développement direct ou larvaire avec modification (nymphe, pupe...)

Lophotrochozoa

P. dumerilii

Pas de mue
Larve trochophore
Groupe très hétérogène

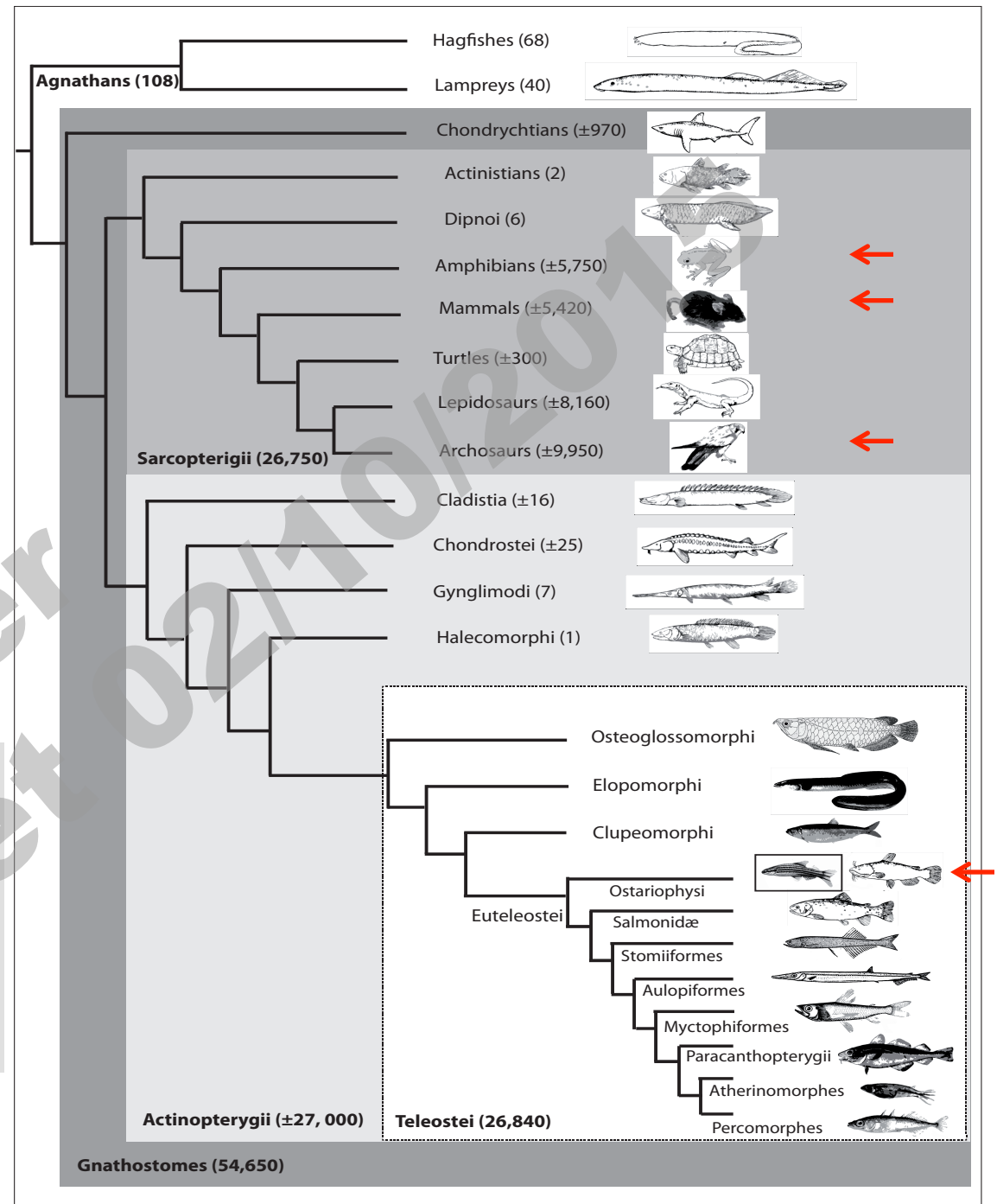
Deuterostomia

C. Intestinalis
D. rerio
M. musculus

Ouverture secondaire de la bouche.
Axe dorso-ventral inversé par rapport aux protostomiens

Trop peu d'animaux modèles appartenant à des groupes peu diversifiés: comparaison trop restreinte et fortement biaisée

Les ancêtres des poissons à nageoires rayonnées (actinoptérygiens) et des "animaux à pâtes" (ou poissons à nageoires charnues, sarcoptérygiens) ont donnés naissance approximativement au même nombre d'espèces (±27 000 espèces)

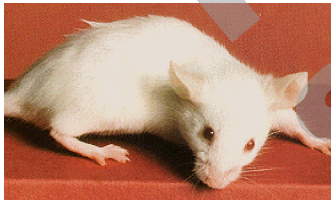


Qu'est-ce qu'un bon "modèle" en Médecine et Pharmacologie?

– qu'est-ce qui doit ou peut être "modélisé"?

"An animal model for biomedical research is one in which normative biology or behaviour can be studied, or in which a spontaneous or induced pathological process can be investigated, and in which the phenomenon in one or more respects resembles the same phenomenon in humans or other species of animals." American National Research Council Committee on Animal Models for Research and Aging

- Il s'agit d'animaux "standardisés" ("typiques") qui augmentent la reproductibilité des expériences et facilitent leur interprétation.
 - ✓ Capables de fournir des résultats **reproductibles**
 - ✓ **Se substituent à l'expérimentation humaine** (éthique), en particulier pour l'étude de la physiopathologie et de la thérapeutique
 - ✓ Les résultats doivent être **extrapolables** à l'espèce humaine, en définissant les conditions de cette extrapolation.



Nombre de gènes

(Ensembl 01-02-2014):

- *C. elegans* : Coding genes: **20,517**
Non coding genes: 23,871
Pseudogenes: 1,448 Gene transcripts: 56,569
- *D. melanogaster*: Coding genes: **13,937**
Non coding genes: 1,331
Pseudogenes: 175
Gene transcripts: 29,173
- *D. rerio*: Coding genes: **26,163**
Non coding genes: 6,041
Pseudogenes: 230
Gene transcripts: 53,778
- *H. sapiens*: Coding genes : **20,848**
Non coding genes: 22,486
Pseudogenes: 13,430
Gene transcripts: 195,409

Temps de développement.

C. intestinalis : <24h

D. rerio : 5-6 jours

M. musculus : 21 jours

H. sapiens : 42 semaines

Types et processus cellulaires:

Differentiation et diversité cellulaire (neurones par ex.) mécanismes communs mais diversité et spécialisation *C. elegans* et *D. melanogaster* < *M. musculus* et *H. sapiens*

Division cellulaire, apoptose, métabolisme, trafic : mécanismes communs, conséquences différentes.

Animaux Modèles: modèles pour quoi?

| | | |
|---|------------------------------|---|
| Nématode (<i>C. elegans</i>) | 97Mb, 20 000 gènes | Génétique, Biologie moléculaire et cellulaire |
| Drosophile (<i>D. melanogaster</i>) | 180Mb, 13 600 gènes | Génétique, Biologie moléculaire et cellulaire, Physiopath. Cellulaire et tissulaire |
| Ascidie (<i>C. intestinalis</i>) | 160Mb, 16 000 gènes | Génétique, Biologie moléculaire et cellulaire, Développement |
| Annélide polychaète (<i>Platynereis dumerilii</i>) | 1000Mb, 15-20 000 gènes | Génétique, Biologie moléculaire et cellulaire, Développement |
| Danio (<i>D. rerio</i>) | 1700Mb, 25-30 000 gènes | Génétique, Physiologie, Physiopath. |
| Médaka (<i>O. latipes</i>) | 800Mb, 23-28 000 gènes | Génétique, Physiologie, Physiopath., Développement |
| Xénope (<i>X. laevis, tropicalis</i>) | 1700Mb (<i>tropicalis</i>) | Biologie moléculaire et cellulaire, Physiologie, Développement |
| Poulet (<i>G. gallus</i>) | 1200Mb, 20-23 000 gènes | Biologie moléculaire et cellulaire, Physiologie, Développement |
| Souris (<i>M. musculus</i>) | 2600Mb, 22-25 000 gènes | Génétique, Physiologie, Physiopathologie, Développement |
| Primates non-humains (<i>M. mulata...</i> etc) | 3000Mb, 24-26 000 gènes | Physiologie, Physiopathologie, Thérapeutique humaine |

Le phylotype



Le plan du corps (Bauplan)



- **Unités fondamentales ou divisions, dont la place, la structure, l'organisation, les relations, la forme sont conservées entre les espèces d'un même groupe (homologues).**
- **Spécifiées (définies) par des réseaux génétiques des mécanismes moléculaires and cellulaires semblables (homologues)**

Réseau génétique 1



Structure - fonction 1

Réseau génétique 2



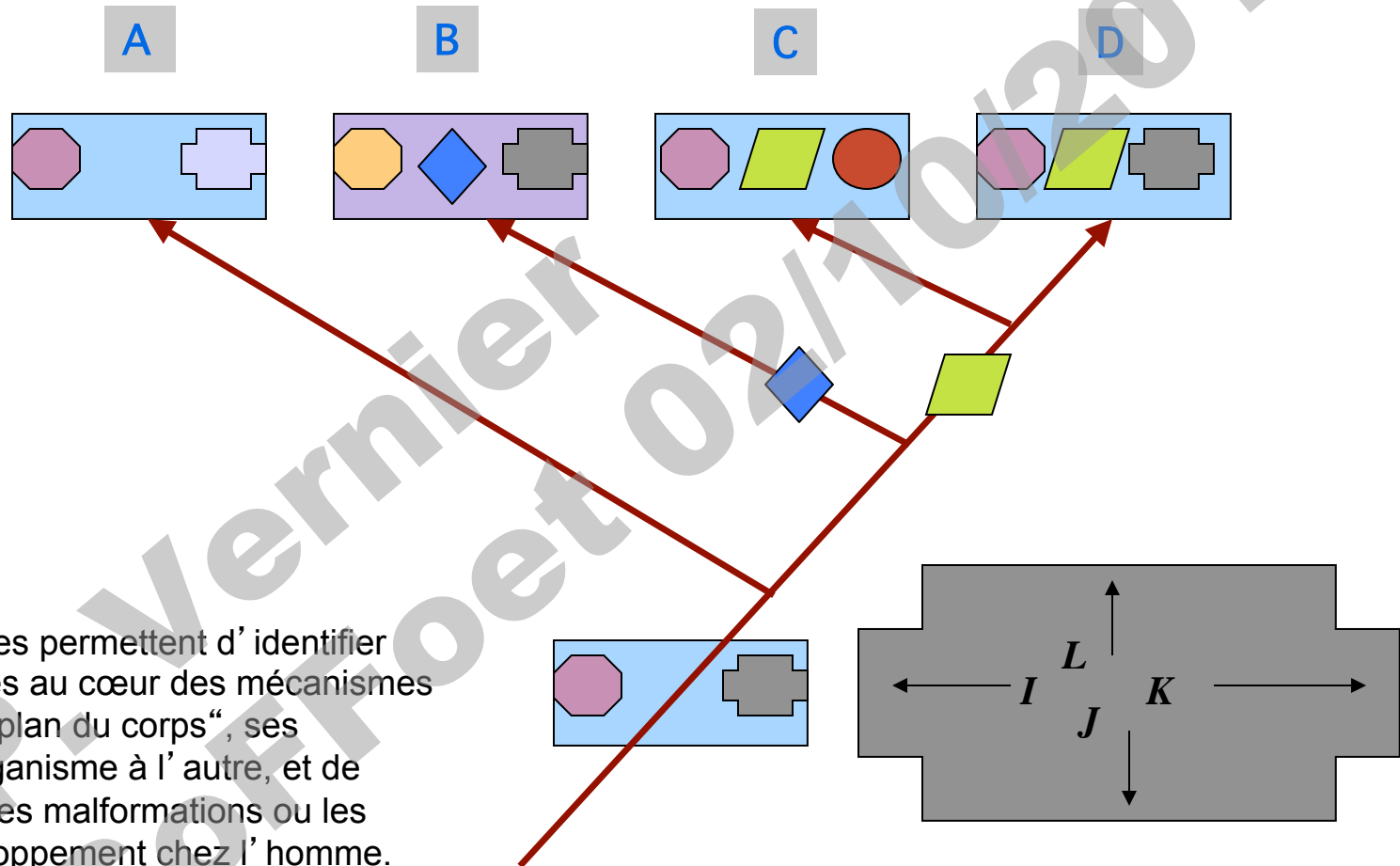
Structure - fonction 2

L' exemple de l' organisation du cerveau des vertébrés = conservation et nouveautés

- Les embryons sont la principale source d'information pour comprendre les relations évolutives entre organismes adultes
- La notion de “plan” du corps (phylotype) s'étend au cerveau
- Les régions du cerveau qui sont homologues sont spécifiées/ déterminées par des réseaux génétiques similaires
- La conservation du plan de construction cérébral des vertébrés s'accompagne d'une grande diversité de forme et de fonctions dans les principaux groupes de vertébrés

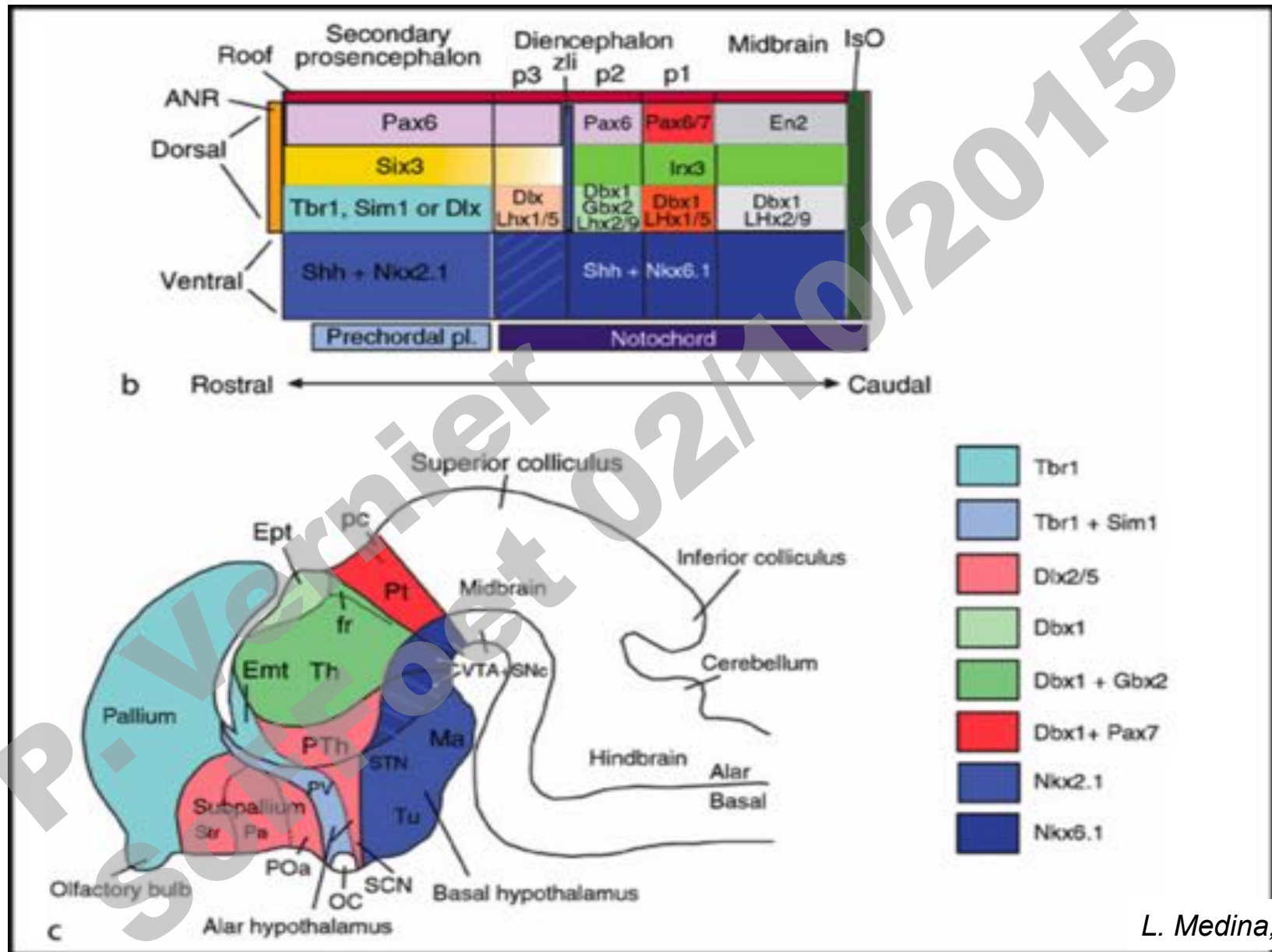
Homologies morphologiques et fonctionnelles: Dépendent de réseaux génétiques semblables (déterminent formes et fonctions)

Evo-Dévo: Connaître l' "ancien" (conservé) pour comprendre la "nouveau"

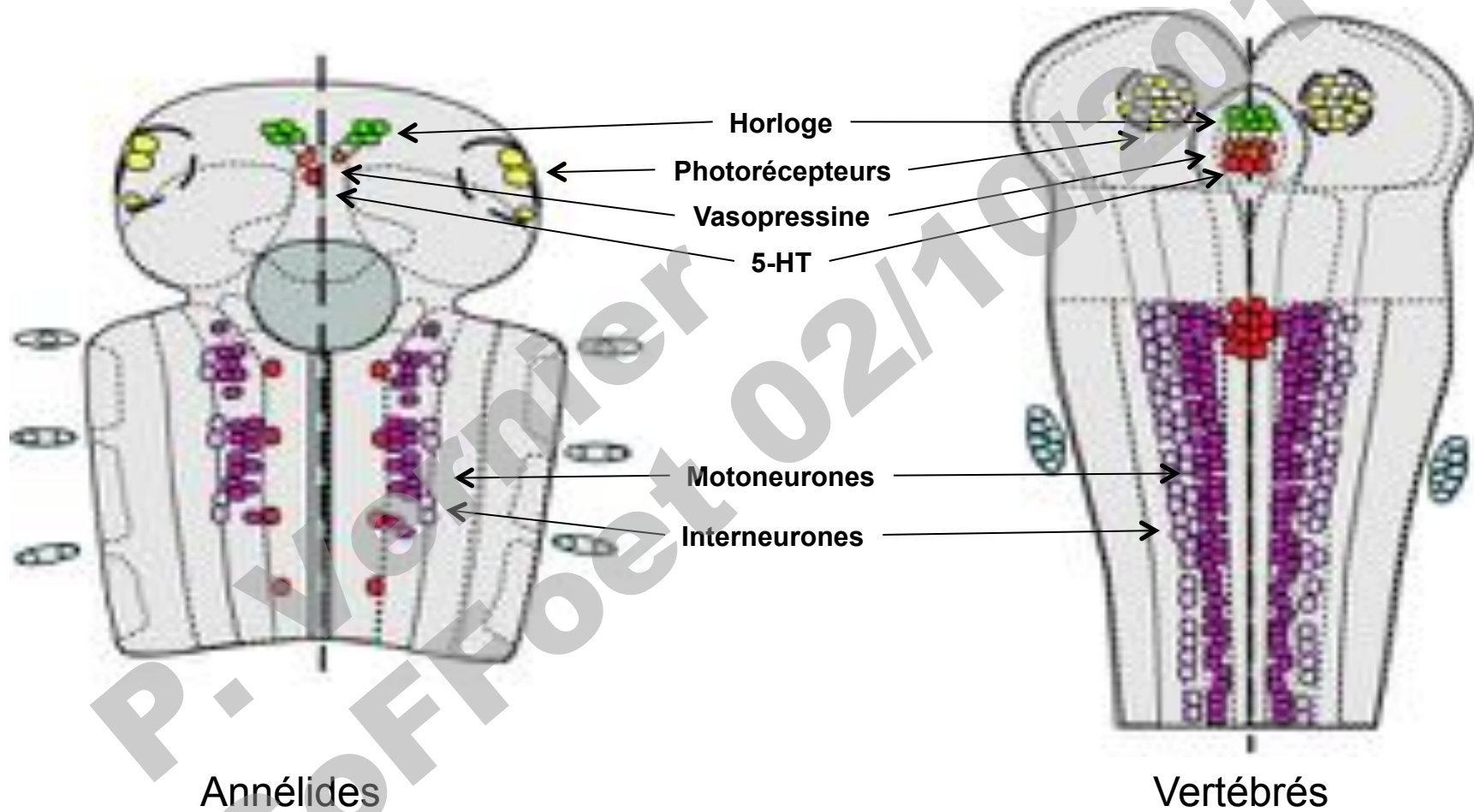


Les animaux modèles permettent d'identifier les réseaux génétiques au cœur des mécanismes de la formation du "plan du corps", ses différences d'un organisme à l'autre, et de mieux comprendre les malformations ou les anomalies du développement chez l'homme.

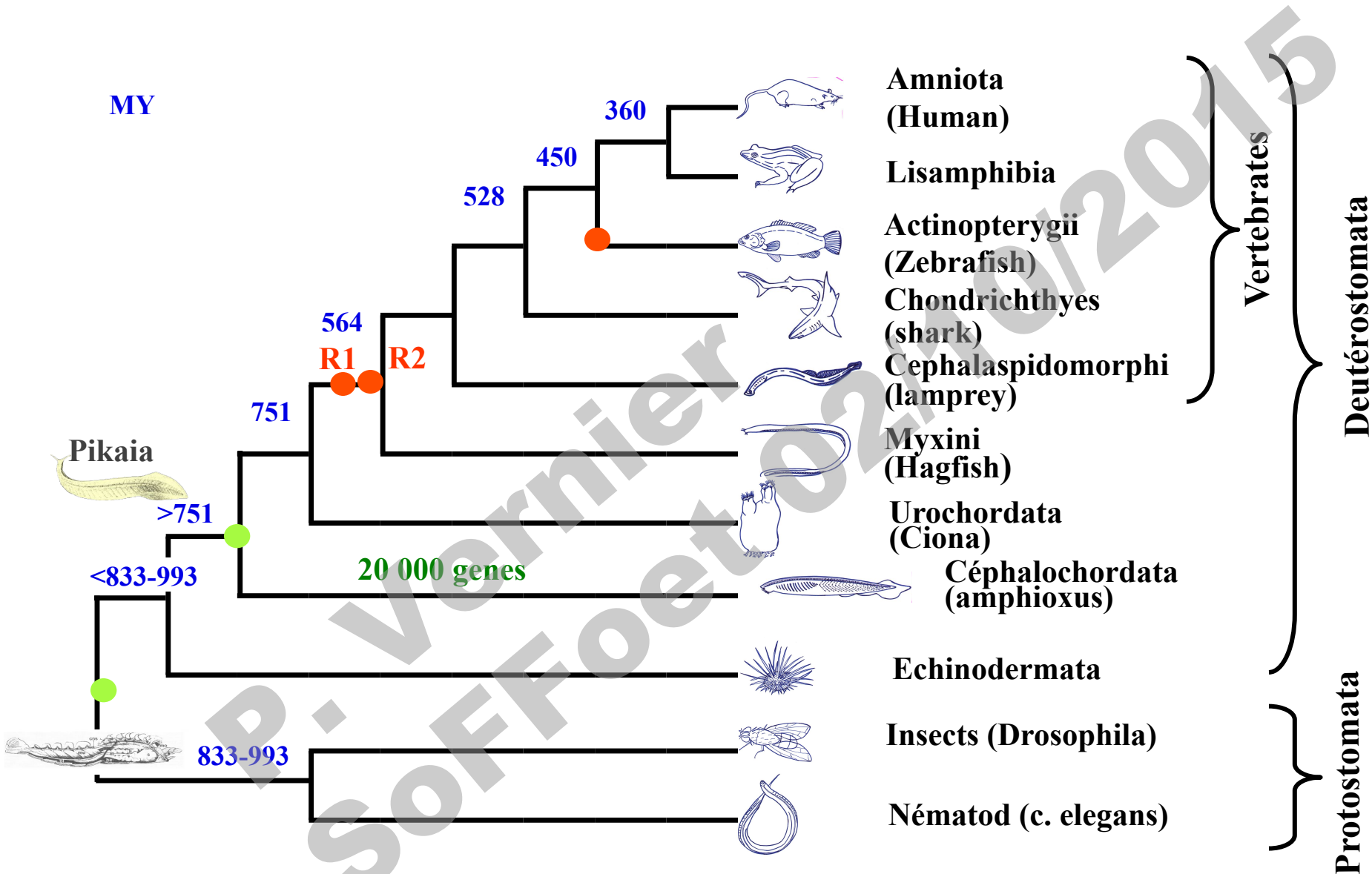
Expression combinée de gènes et régionalisation du cerveau



Conservation des types cellulaires spécifiés et différenciés dans le cerveau chez les vertébrés et les annélides (régionalisation et destin cellulaire)

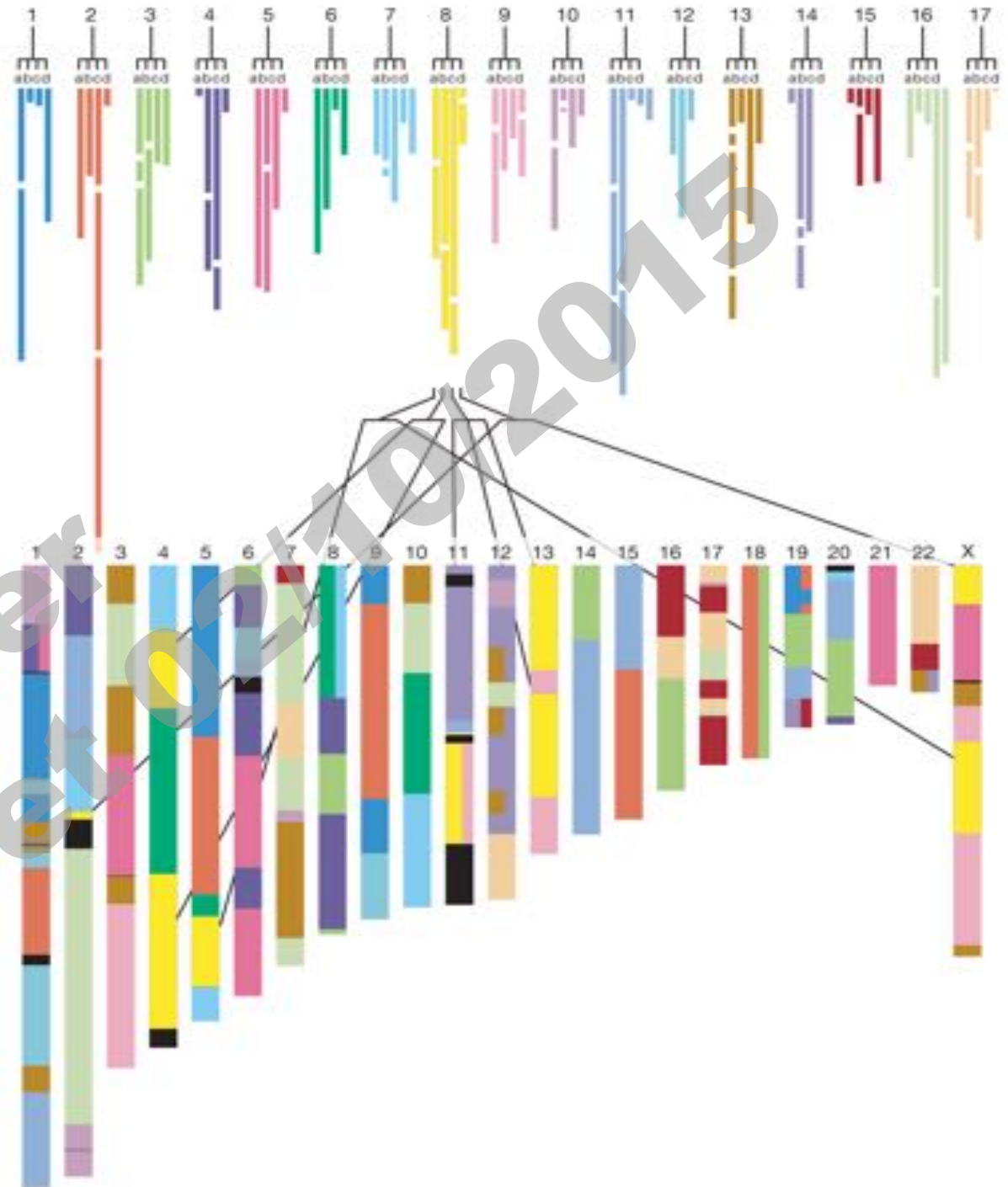


Les duplications de génomes qui accompagnent la lignée des craniates/vertébrés



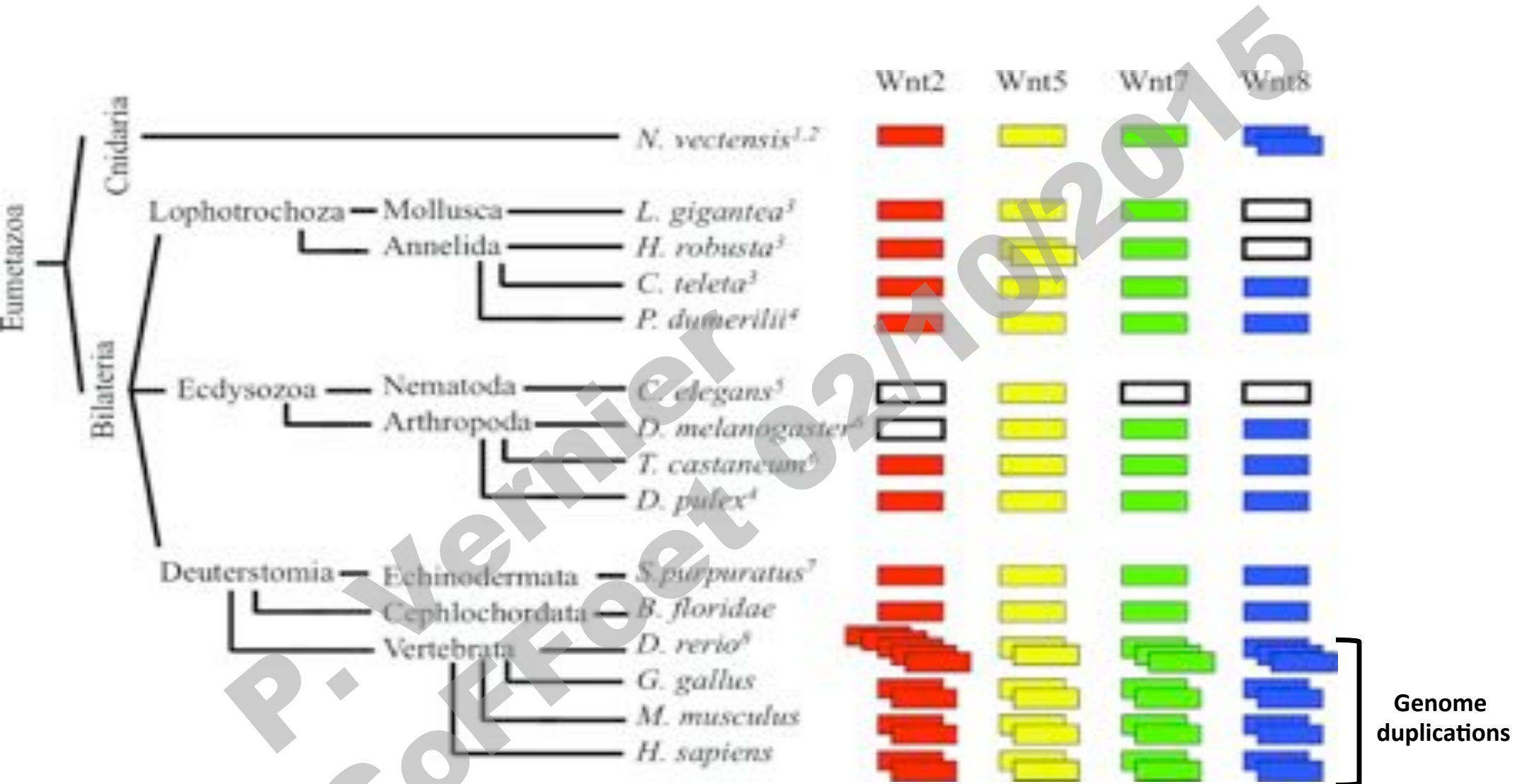
Conservations de gènes synténiques chez l'amphioxus et l'homme:

- Dans l'espèce humaine, il y a en moyenne, 4 gènes dupliqués apparentés à 1 gène chez l'amphioxus.
- Argument en faveur de l'hypothèse d'une double duplication du génome concomitante avec l'émergence des Crâniates/Vertébrés.

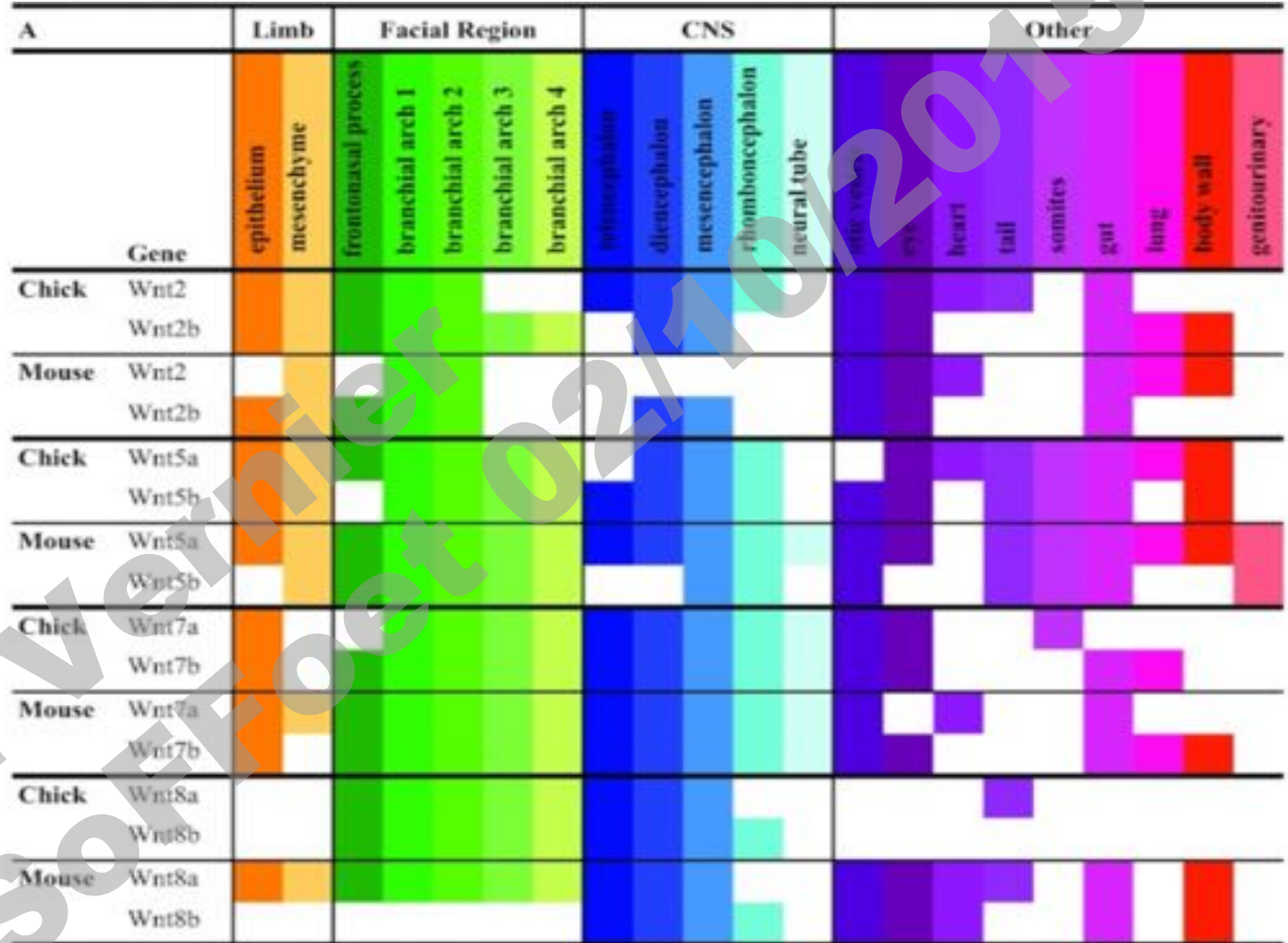


Example:

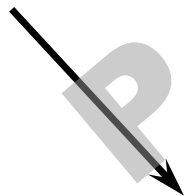
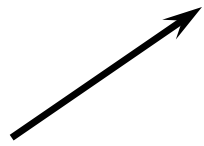
Genome duplication and the evolution of the Wnt family in Vertebrates



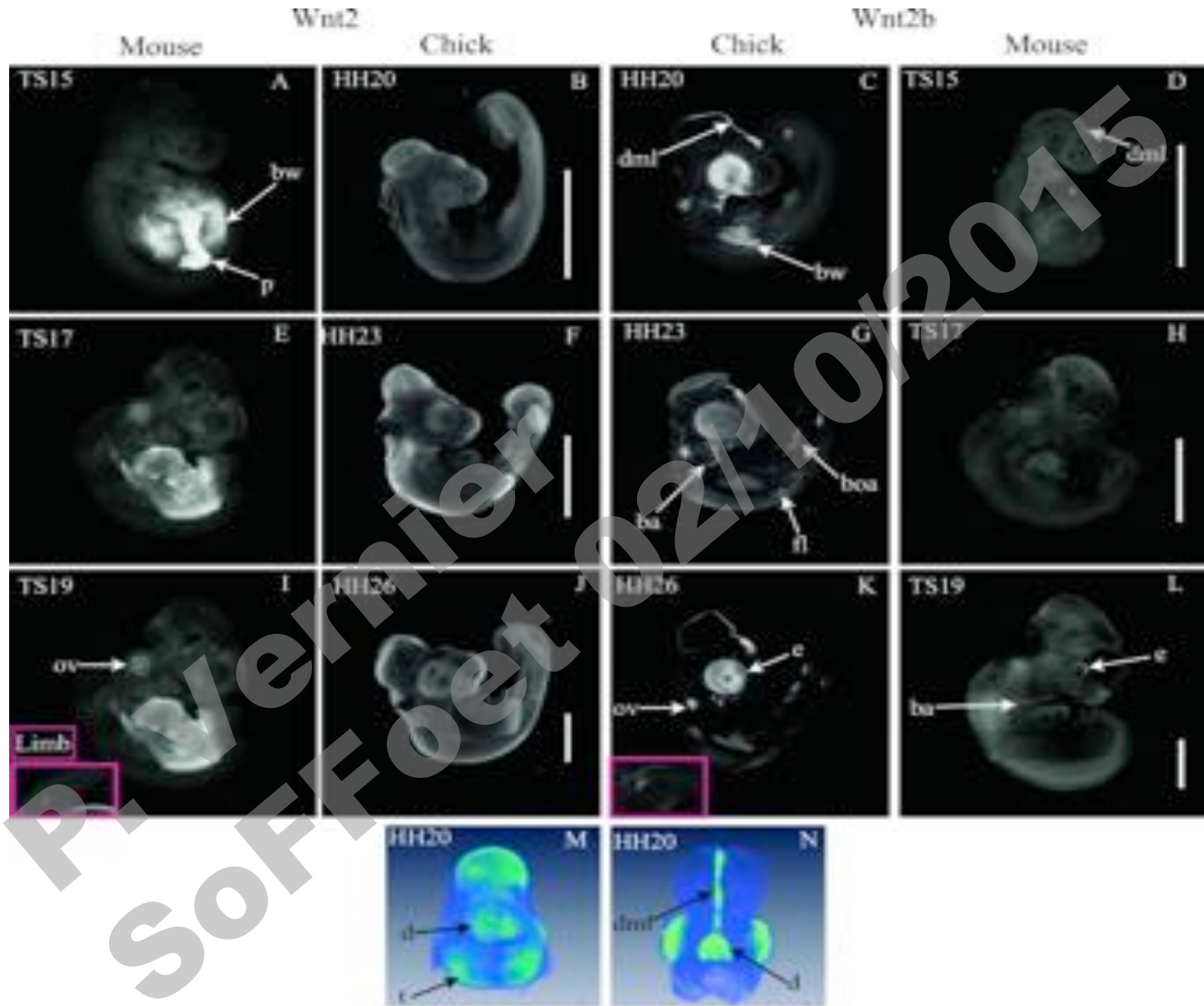
Comparaison de l'expression des gènes paralogues et orthologues de la famille Wnt chez le poulet et la souris



Différences importantes pour l'expression des 2 paralogues des classes Wnt2 et Wnt8 (sous-fonctionnalisation)



Inversion de l'expression des paralogues



Animaux “modèles”

Génétique / modèles
facilitant la recherche
translationnelle



médaka
Oryzias latipes



danio
Danio rerio



Mouche du vinaigre
Drosophila melanogaster



Nématode
Caenorhabditis elegans



Poulet (caille)
Gallus gallus



Xénope
Xenopus laevis



Souris
Mus musculus



Annélide
platynereis dumerilii



Oursin
Strongylocentrotus drobachiensis



Ascidie (cione)
Ciona intestinalis

Tout ces modèles sont surtout utilisés en recherche fondamentale, mais ils sont aussi très utiles à la recherche translationnelle

Drosophila melanogaster

–un modèle pour les maladies humaines?



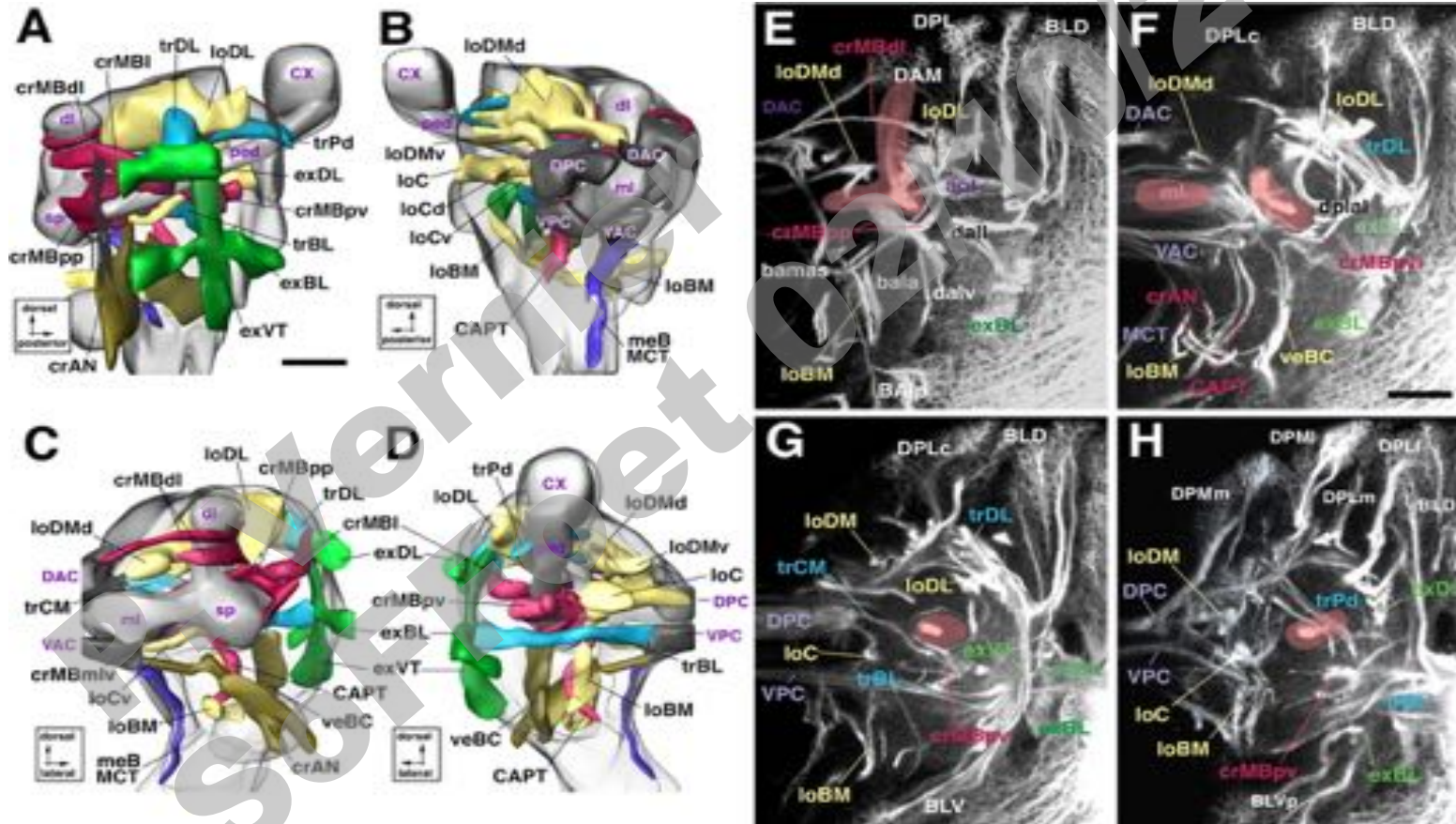
- Animal vedette de la génétique**, facile à élever, temps de génération court (10 jours), prolifique (>800 œufs/fem.)
- Génome simple** (4 paires de chromosomes, pour 23 chez l'homme; 12 000 gènes alors que l'homme en possède environ 20 000)
- Les mécanismes cellulaires fondamentaux** sont **très semblables les** chez les humains et les mouches (y compris la régulation de l'expression des gènes, le trafic subcellulaire, la transmission synaptique, la synaptogénèse, la mort cellulaire)
- Beaucoup de **gènes** et **de voies de signalisation cellulaires** sont **conservés** entre l'espèce humaine et la drosophile

Homophila : a comprehensive linkage between the disease genes compiled in Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) and the complete Drosophila genomic sequence: <http://homophila.sdsc.edu>.

- **Système nerveux plus simple que celui des vertébrés** (~ 200 000 neurones au lieu de ~100 milliards de neurones chez l'homme)

- Néanmoins, les mouches sont capables de **comportements moteurs complexes** (marcher, grimper, voler), et peuvent être entraînées par **conditionnement** pour tester leur apprentissage et leur mémoire, par ex.

- Neurones et circuits sont **bien cartographiés**



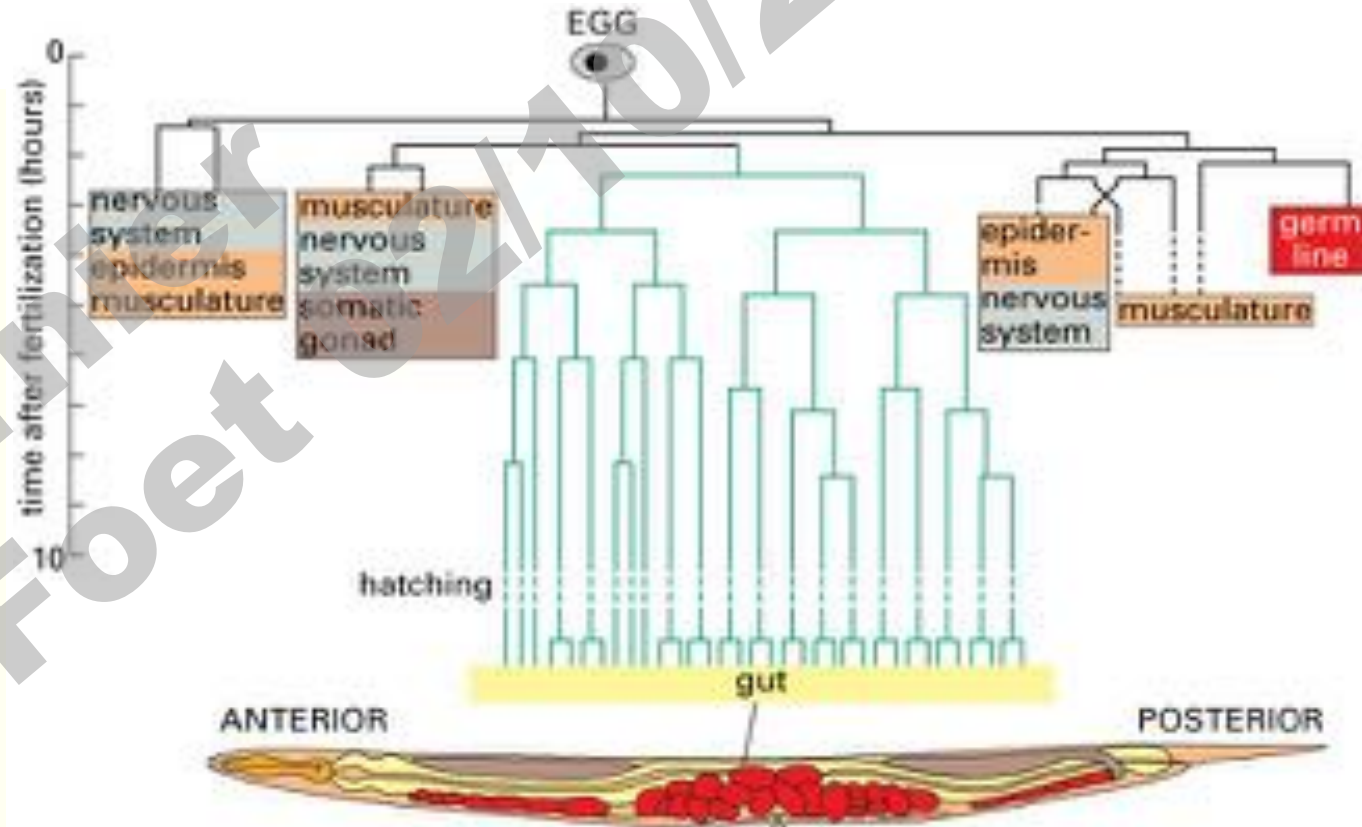
Le Nématode-modèle

Cænorhabditis elegans

Introduit par Sidney Brenner en 1963, *C. elegans* est devenu un modèle incontournable pour la génétique des processus cellulaires. *C. elegans* possède une anatomie relativement simple (959 cellules somatiques, dont 102 neurones), un lignage cellulaire fixe et entièrement élucidé, tout comme les connexions entre neurones. Son génome de 100 megabases environ fut le premier d'un animal multicellulaire à être séquencé en 1998, et il comprend ~20,000 gènes.

Principaux avantages:

- ✓ Animal très simple
- ✓ Très facile à élever
- ✓ Temps de génération court (4j.), prolifique (>300 œufs/j.), hermaphrodite
- ✓ Lignage cellulaire fixe
- ✓ Milliers de mutants
- ✓ Transparent
- ✓ Manipulations géniques par:
 - Transgénése
 - Recombin. homologue
 - Si-RNA

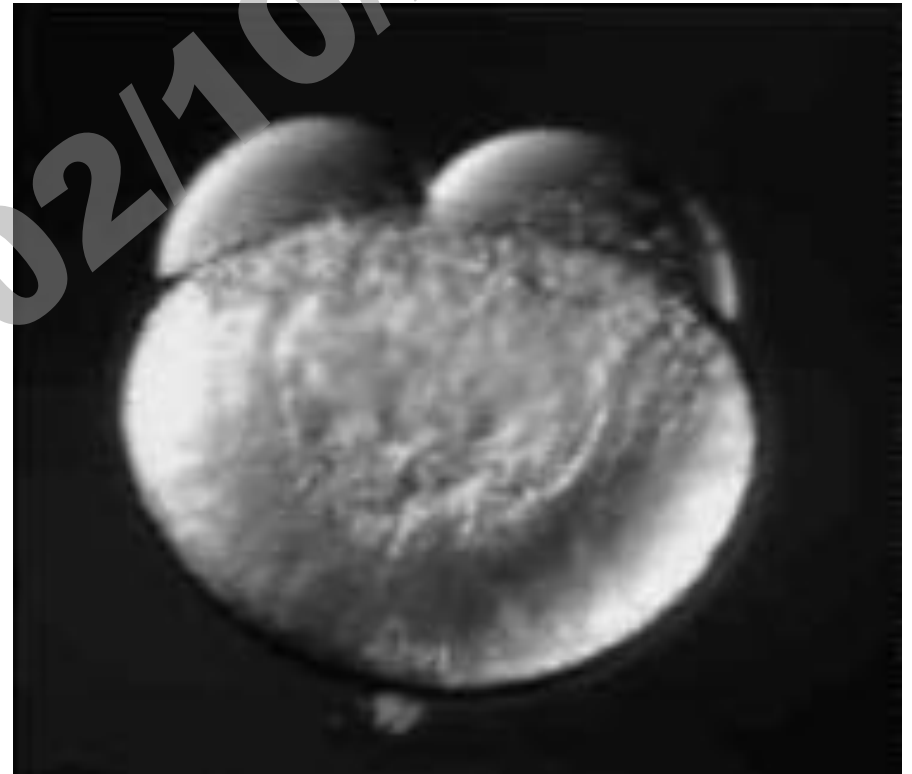


Danio ou “poisson zébré” (*Brachydanio rerio*)

Introduit comme organisme modèle pour la génétique par George Streisinger dans les années 1960, le “zebrafish” a vu sa notoriété s’accroître notablement grâce aux cribles génétiques conduits sous la direction C. Nüsslein-Volhard à Tübingen. Il est désormais devenu l’un des organismes les plus utilisés pour l’étude du développement des vertébrés, mais aussi de la physiopathologie des maladies humaines.

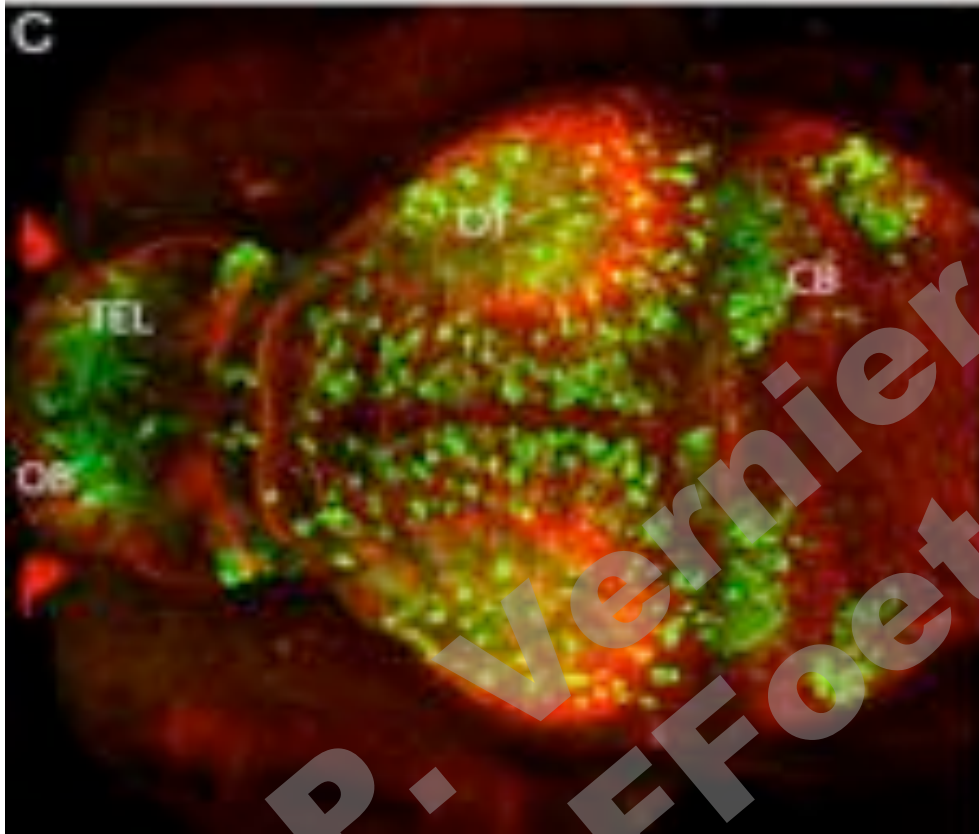
Principaux avantages:

- ✓ Facile à élever
- ✓ Temps de croissance (3-4 j.) et de génération court (1 mois), prolifique (>20 œufs/j.),
- ✓ Milliers de mutants
- ✓ Transparent imagerie *in vivo*
- ✓ Manipulations géniques par:
 - Transgénèse (UAS-Gal4)
 - Morpholinos
 - Nucléases “à doigts de zinc”

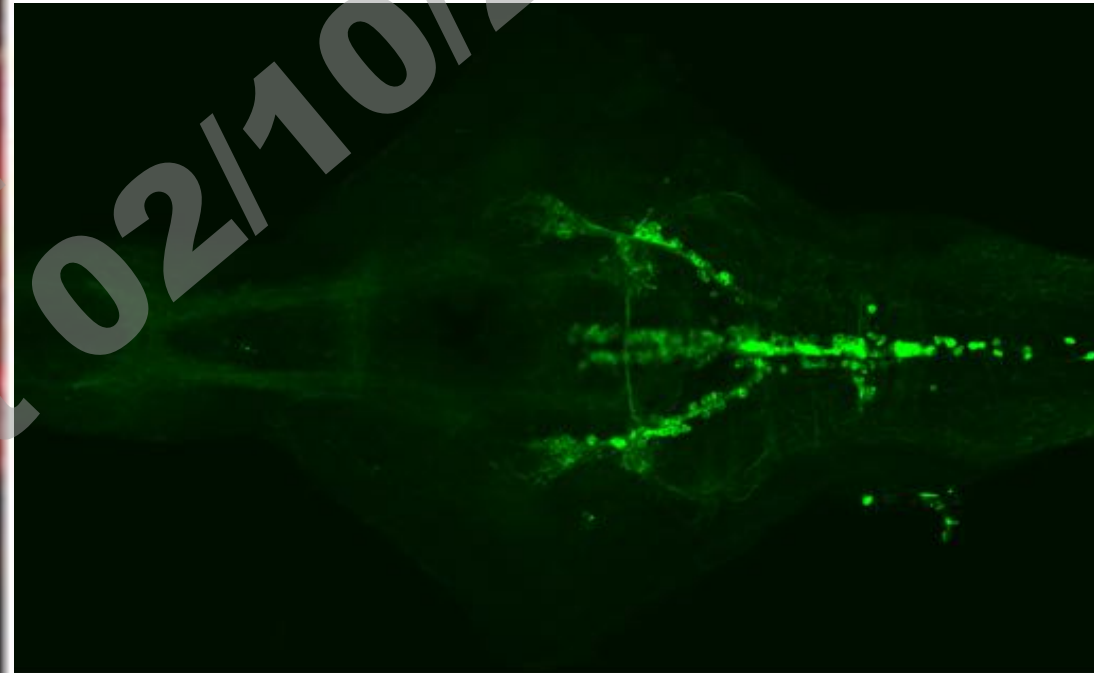


-Lignées transgéniques / collection de mutants :

- Imagerie *in vivo* des **circuits neuronaux**
- Imagerie *in vivo* de l'**activité neuronale**
- Imagerie *in vivo* des **processus cellulaires / sub-cellulaires**
- Perte et gain** de fonction (hsp, Cre, Gal4)



brn3a:egfp + ac. Tubulin
(Okamoto et al., Dev. Growth. Diff. 2008)



pet1:egfp
(Lillesaar et al., J. Comp. Neurol., 2009)

-Utilisable pour **des tests comportementaux** (avec les mêmes limitations que chez la souris)



Tous les paramètres de la **locomotion** peuvent être mesurés au **stage juvénile** (36 poissons/ plaque)

Donne des indications sur:

- **contrôle et performance moteurs** (activité)
- **accélérations** (impulsivité?)
- **Fonctions "supérieures"** e.g. motivation

Qu'est-ce qu'un bon "modèle" en Médecine et Pharmacologie?

– qu'est-ce qui doit ou peut être "modélisé"?

-Validité de construction : Le modèle est fondé sur un **mécanisme biologique validé**

- Par exemple, si la neurodégénérescence est due à une altération des fonctions mitochondriales, des modèles de dysfonction mitochondriale seront créés pour comprendre la neurodégénérescence

-Validité prédictive : prédire les effets qu'aura une manipulation pharmacologique sur la condition pathologique modélisée (test critique pour passer un agent pharmacologique au stade de développement)

-Validité d'apparence: Est-ce que l'apparence extérieure du modèle ressemble à la pathologie humaine ?

- Il s'agit souvent d'une analyse des comportements, mais qui sont en général trop complexes
→ **endophénotypes**

Qu'est-ce qu'un bon "modèle" en Médecine et Pharmacologie? – qu'est-ce qui doit ou peut être "modélisé"?

Notion d'endophénotype:

Partie de phénotype stable : un comportement/ ou du symptôme d'une maladie avec une composante génétique claire.
(phénotype intermédiaire, biomarqueurs ... qui co-segrège avec la maladie)

Par exemple, pour les **maladies psychiatriques** :

→schizophrénie:

- symptôme avéré: (psychose), délires, troubles de la motivation, troubles cognitifs,
- endophénotypes: dans le modèle animal, perte du seuil de sensibilité sensori-motrice, troubles de la mémoire de travail

Peut être étendu à **tous les aspects d'une maladie**, pas seulement les aspect comportementaux.

Par exemple:

- phénotypes **cellulaires** (dégénération, prolifération...)
- phénotypes **sub-cellulaires** (transport vésiculaire, fusion mitochondriale ...)
- phénotypes **moléculaires** (biomarqueurs)

Conclusions

INTÉRÊTS ET AVANTAGES DES MODÈLES ANIMAUX

- Les modèles animaux sont utiles pour étudier quelques uns des **endophénotypes** d' un syndrome particulier (sub-cellulaire, cellulaire, tissulaire, organe, at même parfois organisme entier –comportement par ex.)
 - Les modèles animaux non mammifères permettent d' analyser toutes ces composantes **in vivo**.
 - Ils peuvent aussi être facilement utilisés pour des **criblages** et des **tests fonctionnels** pour:
 - la découverte de gènes
 - l'identification de voies de signalisations et d' interacteurs
 - l'identification et la validation in vivo de composés actifs
- **Identifications des bases génétiques et cellulaires qui sous-tendent des processus biologiques complexes.**

Conclusions

LIMITATIONS

- Il faut s'assurer de:
 - l'**existence** de **facteurs orthologues** aux composants moléculaires des voies de signalisation concernées dans l'espèce-modèle utilisée.
 - **conservation suffisante des séquences protéiques** (en particulier pour les criblages pharmacologiques)
- Pour interpréter les résultats, il faut prendre en compte les **caractéristiques spécifiques de chaque espèce** (durée de vie, potentiel de régénération ...)

Animaux modèles & Modèles-animaux



→ INDISPENSABLES MAIS PAS UNIVERSELS