

DE L'IMPORTANCE DES CONSTANTES BIOLOGIQUES  
DES ANIMAUX DE LABORATOIRE :  
A PROPOS DES OBSERVATIONS DE L'ELEVAGE  
DU CENTRE NATIONAL DE RECHERCHES  
PHARMACEUTIQUES

par

A. M. RATSIMBASON, J. A. ANDRIANTSIMBA, M. RAJAOMARIA,  
RAHARIMANANA et R. ANDRIANTSIFERANA

La recherche des effets biologiques des plantes médicinales nécessite l'utilisation d'animaux de laboratoire. L'activité d'un agent médicamenteux est donc évaluée par rapport à un état physiologique qui sert de référence. D'où la nécessité de connaître les réponses normales de l'animal qu'on choisit comme réactif.

Les rongeurs (rats, souris, cobayes, lapins) que nous utilisons dans nos laboratoires ont été introduits à Madagascar. Les géniteurs des rats et des souris avaient été habitués aux conditions optimales des animaleries européennes, avec une température constante toute l'année, une photopériode invariable et un régime alimentaire fixe.

Or, à Madagascar, et à Antananarivo en particulier, les températures extrêmes sont relativement tempérées. Ainsi l'été, la température maximale est de  $23,7 \pm 2,0$  degrés C et la minimale  $21,1 \pm 3,5$ ° C. En hiver, la maximale est de  $21,0 \pm 2,4$ ° C et la minimale  $16,1 \pm 1,9$ ° C. Soit un écart de l'ordre de 9° C été comme hiver entre les extrêmes. Par ailleurs, l'éclairage étant naturel, la photopériode varie aussi avec les saisons.

De même, le régime alimentaire a dû être établi, avec les ingrédients disponibles localement, et qui peuvent varier selon les fluctuations des productions agricoles.

Ces variations de facteurs écologiques ont sûrement des répercussions sur la physiologie des animaux, et donc sur leur réactivité. C'est pourquoi nous avons toujours vérifié tout test pharmacologique, même classique, avant de l'appliquer à nos produits. Et nous avons été chaque fois amenés à faire une mise au point, une adaptation aux conditions de nos laboratoires.

Ce sont ces ajustements qui nous ont décidés à étudier les principaux paramètres biologiques de nos animaux, afin de disposer de bases sûres, établies une fois pour toutes.

Nous présentons dans cette note, les premières études réalisées sur le RAT WISTAR. Elles portent sur :

- l'hémogramme,
- la pression artérielle,
- la maturité sexuelle des femelles.

## 1. - HEMOGRAMME :

### 1.1. Principe et méthode :

Des animaux de quatre mois et de douze mois ont servi à ces numérations des éléments figurés du sang. On prélève le sang par une ponction cardiaque. Le liquide de Marcano et de Lazarus servent respectivement à la dilution des globules rouges et des globules blancs. Les cellules de Thomas ont servi au comptage.

### 1.2. Résultats :

Les globules blancs ont un histogramme (fig. 1) qui est symétrique autour de la classe modale : la moyenne est de 8.900 globules blancs par  $\text{mm}^3$ . Cette valeur diffère peu entre les sujets jeunes et âgés. Pour les globules rouges, on trouve une moyenne de  $9,14 \cdot 10^6$  G.R. par  $\text{mm}^3$ .

Ces chiffres ne sont pas loin des données des laboratoires européens. Pour la même souche de rat, ils ont donné comme moyenne : 9.000 globules blancs par  $\text{mm}^3$  et  $9,35 \cdot 10^6$  globules rouges/ $\text{mm}^3$ .

L'intérêt de ces numérations réside dans l'étude des implications possibles de nos produits sur les éléments figurés du sang, produits qui peuvent être anémiantes ou leucopéniants.

## 2. - LA PRESSION ARTERIELLE A LA QUEUE :

2.1. Cette méthode, par opposition aux autres techniques de mesure de la pression artérielle, est non sanglante. Elle évite les inconvénients que pourraient donner les anesthésiques et le traumatisme opératoire dans l'installation des cathéters. La mesure est effectuée dans les conditions normales sauf qu'un chauffage préalable des animaux est nécessaire pour dilater le système circulatoire.

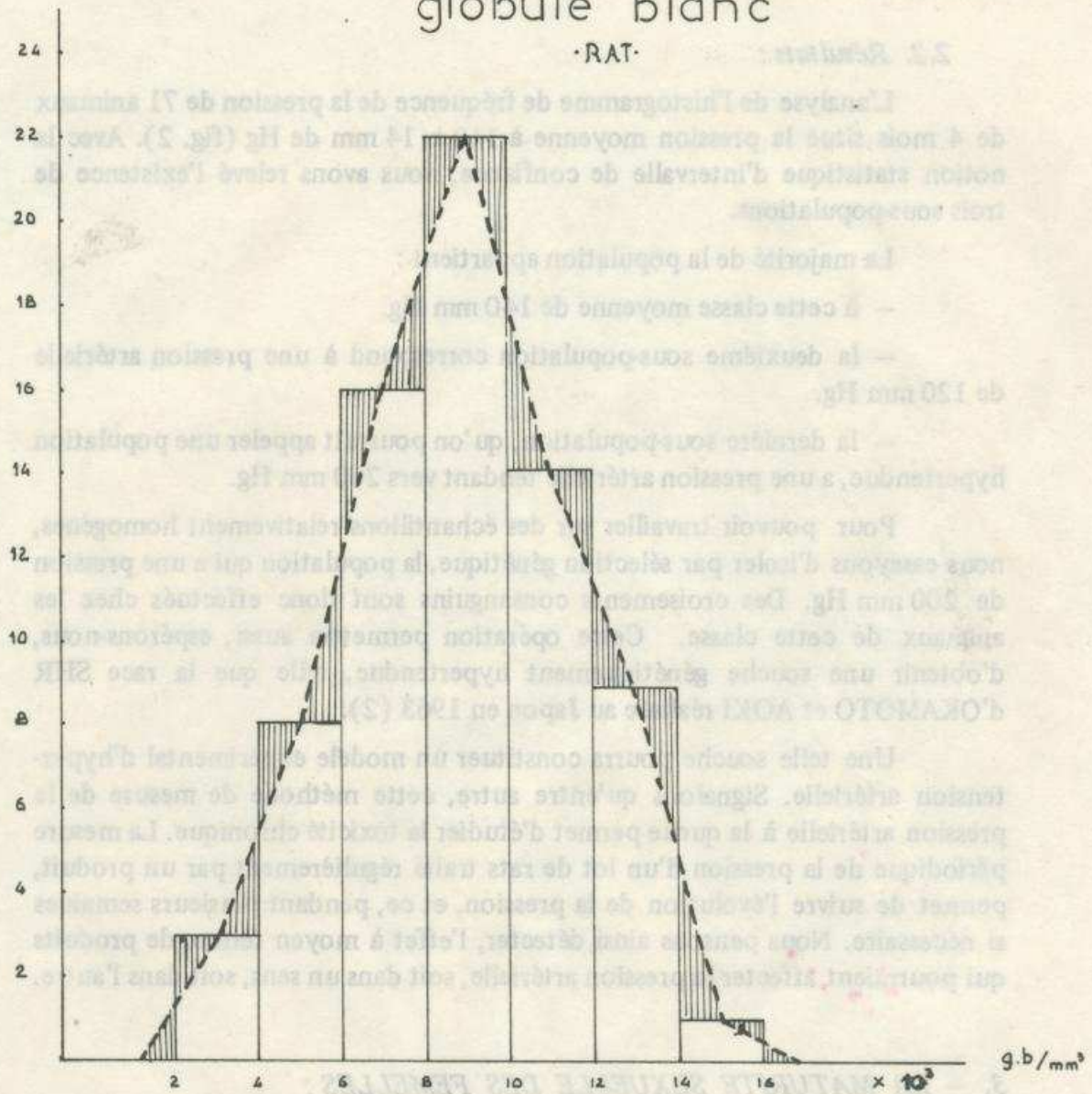
Le Centre National de Recherches Pharmaceutiques dispose d'un sphygmomanomètre qui est basé sur le même principe que le brassard de Vaquez. Placé en amont de la queue, un manchon en caoutchouc interrompt la circu-

Fréquence

Fig. 1

# HEMOGRAMME globule blanc

·RAT·



Histogramme de fréquence

$n \dots = 63$   
 moyenne  $\dots = 8,810 \times 10^3$   
 coefficient de dissymétrie  $a_3 = -0,066$   
 aplatissement  $b_2 - 3 = 0,871$

lation sanguine lorsque la pression est suffisante. En aval de cette membrane de caoutchouc, un capteur de pression enregistre la première apparition des pulsations systoliques, lorsqu'on décomprime progressivement le manchon. Les pulsations apparaissent lorsque la pression de l'air est égale à la pression systolique artérielle.

## 2.2. Résultats :

L'analyse de l'histogramme de fréquence de la pression de 71 animaux de 4 mois situe la pression moyenne à  $140 \pm 14$  mm de Hg (fig. 2). Avec la notion statistique d'intervalle de confiance, nous avons relevé l'existence de trois sous-populations.

La majorité de la population appartient :

- à cette classe moyenne de 140 mm Hg.
- la deuxième sous-population correspond à une pression artérielle de 120 mm Hg.
- la dernière sous-population, qu'on pourrait appeler une population hypertendue, a une pression artérielle tendant vers 200 mm Hg.

Pour pouvoir travailler sur des échantillons relativement homogènes, nous essayons d'isoler par sélection génétique, la population qui a une pression de 200 mm Hg. Des croisements consanguins sont donc effectués chez les animaux de cette classe. Cette opération permettra aussi, espérons-nous, d'obtenir une souche génétiquement hypertendue, telle que la race SHR d'OKAMOTO et AOKI réalisée au Japon en 1963 (2).

Une telle souche pourra constituer un modèle expérimental d'hypertension artérielle. Signalons qu'entre autre, cette méthode de mesure de la pression artérielle à la queue permet d'étudier la toxicité chronique. La mesure périodique de la pression d'un lot de rats traité régulièrement par un produit, permet de suivre l'évolution de la pression, et ce, pendant plusieurs semaines si nécessaire. Nous pensons ainsi détecter, l'effet à moyen terme, de produits qui pourraient affecter la pression artérielle, soit dans un sens, soit dans l'autre.

## 3. - LA MATURITE SEXUELLE DES FEMELLES :

### 3.1. Principe et méthode :

On suit la maturité sexuelle, par la durée écoulée entre la date de naissance et l'ouverture vaginale. Les facteurs qui interviennent dans cet événement sont de deux ordres :

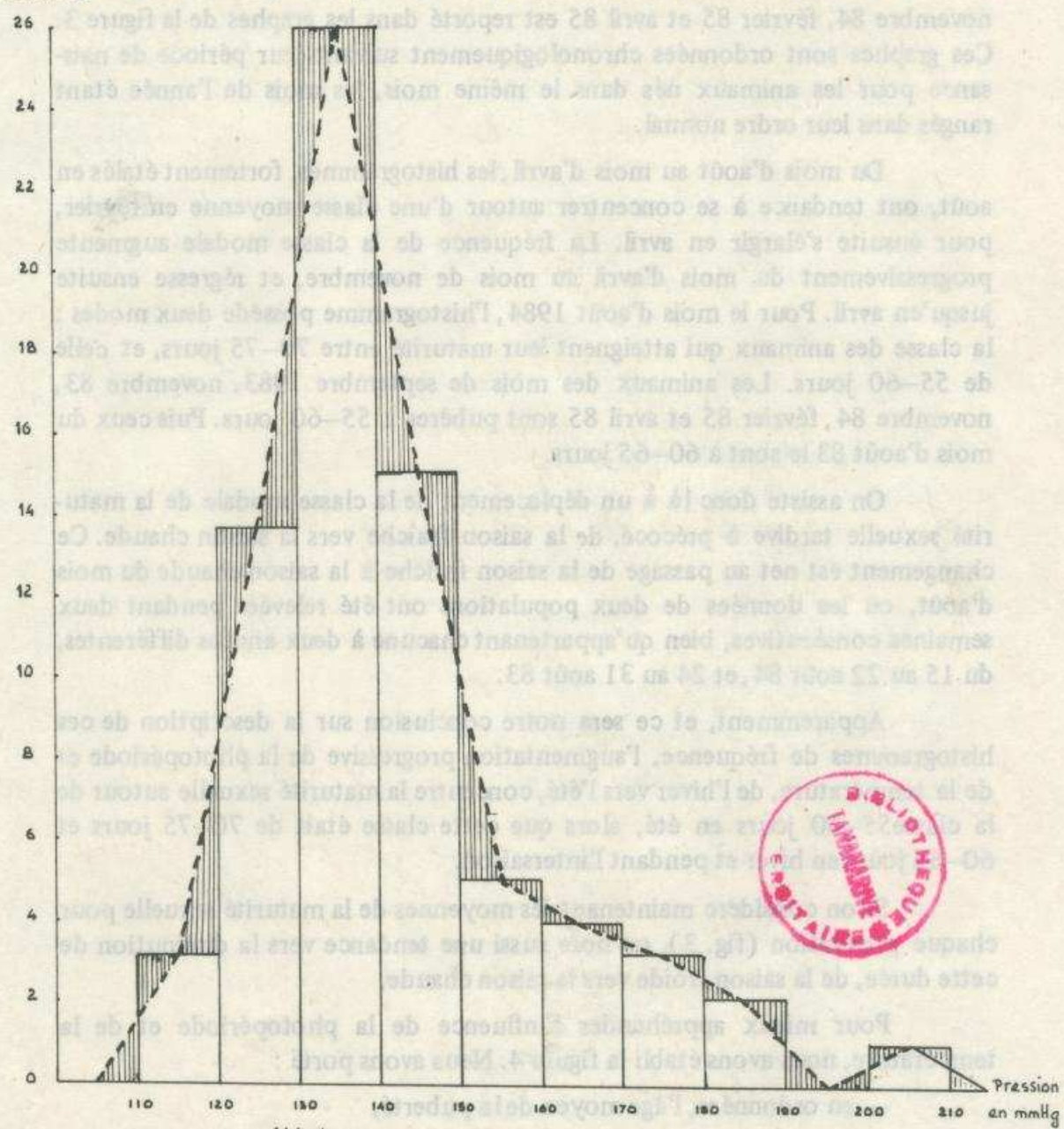
- les facteurs intrinsèques : la maturation du système neuro-endocrinien qui régit l'ovulation,
- les facteurs extrinsèques : qui regroupent les facteurs écologiques (photopériode, température, nourriture).

C'est le rôle de ces auteurs expérimentaux que nous cherchons à étudier.

3.3. Résultats et interprétation.

fig 2  
Fréquence

Pression Artérielle à la Queue des Rats



Histogramme de fréquence

n = 71  
 moyenne ..... = 140,634  
 coefficient de dissymétrie: 1,043      courbe étalée à droite  
 aplatissement ..... = 0,903      forte concentration

C'est le rôle de ces facteurs extrinsèques que nous cherchons à étudier.

### 3.2. Résultats et interprétations :

Dans le présent travail, l'histogramme de fréquence de la maturité sexuelle des rats femelles nées les mois d'août 83 et 84, septembre 83 et 84, novembre 84, février 85 et avril 85 est reporté dans les graphes de la figure 3. Ces graphes sont ordonnées chronologiquement suivant leur période de naissance pour les animaux nés dans le même mois, les mois de l'année étant rangés dans leur ordre normal.

Du mois d'août au mois d'avril, les histogrammes, fortement étalés en août, ont tendance à se concentrer autour d'une classe moyenne en février, pour ensuite s'élargir en avril. La fréquence de la classe modale augmente progressivement du mois d'avril au mois de novembre, et régresse ensuite jusqu'en avril. Pour le mois d'août 1984, l'histogramme possède deux modes : la classe des animaux qui atteignent leur maturité entre 70-75 jours, et celle de 55-60 jours. Les animaux des mois de septembre 1983, novembre 83, novembre 84, février 85 et avril 85 sont pubères à 55-60 jours. Puis ceux du mois d'août 83 le sont à 60-65 jours.

On assiste donc là à un déplacement de la classe modale de la maturité sexuelle tardive à précocé, de la saison fraîche vers la saison chaude. Ce changement est net au passage de la saison fraîche à la saison chaude du mois d'août, où les données de deux populations ont été relevées pendant deux semaines consécutives, bien qu'appartenant chacune à deux années différentes, du 15 au 22 août 84, et 24 au 31 août 83.

Apparemment, et ce sera notre conclusion sur la description de ces histogrammes de fréquence, l'augmentation progressive de la photopériode et de la température, de l'hiver vers l'été, concentre la maturité sexuelle autour de la classe 55-60 jours en été, alors que cette classe était de 70-75 jours et 60-65 jours en hiver et pendant l'intersaison.

Si on considère maintenant les moyennes de la maturité sexuelle pour chaque population (fig. 3), on note aussi une tendance vers la diminution de cette durée, de la saison froide vers la saison chaude.

Pour mieux appréhender l'influence de la photopériode et de la température, nous avons établi la figure 4. Nous avons porté :

- en ordonnées, l'âge moyen de la puberté,
- en abscisses, la date de naissance correspondante.

Ainsi, chaque point représente l'âge moyen des animaux qui ont subi les deux facteurs extrinsèques pendant le même laps de temps.

L'allure générale du tracé est une courbe descendante. On peut cependant en distinguer trois parties :

- une première région descendante, d'août 84-83 à septembre 83,

Avril 85  
 n = 161  
 m = 55.1 ± 0.5

Fév 85  
 n = 130  
 m = 58.2 ± 0.4

Nov. 84  
 n = 50  
 m = 59.2 ± 1.0

Sept. 83  
 n = 106  
 m = 58.0 ± 0.4

Août 83  
 n = 410  
 m = 62.0 ± 0.4

Août 84  
 n = 48  
 m = 74.1 ± 1.7

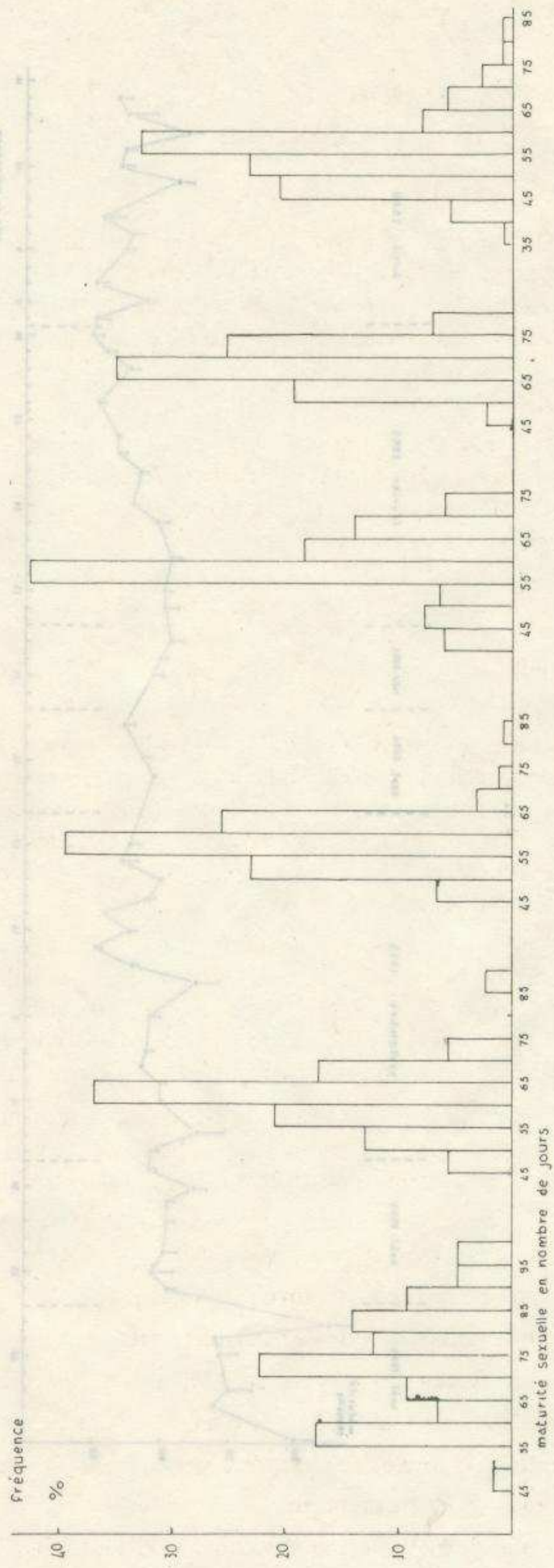


Figure 3 : histogramme de fréquence de la maturité sexuelle

Figure 3 : Evolution de la maturité sexuelle en fonction de la date de naissance des animaux

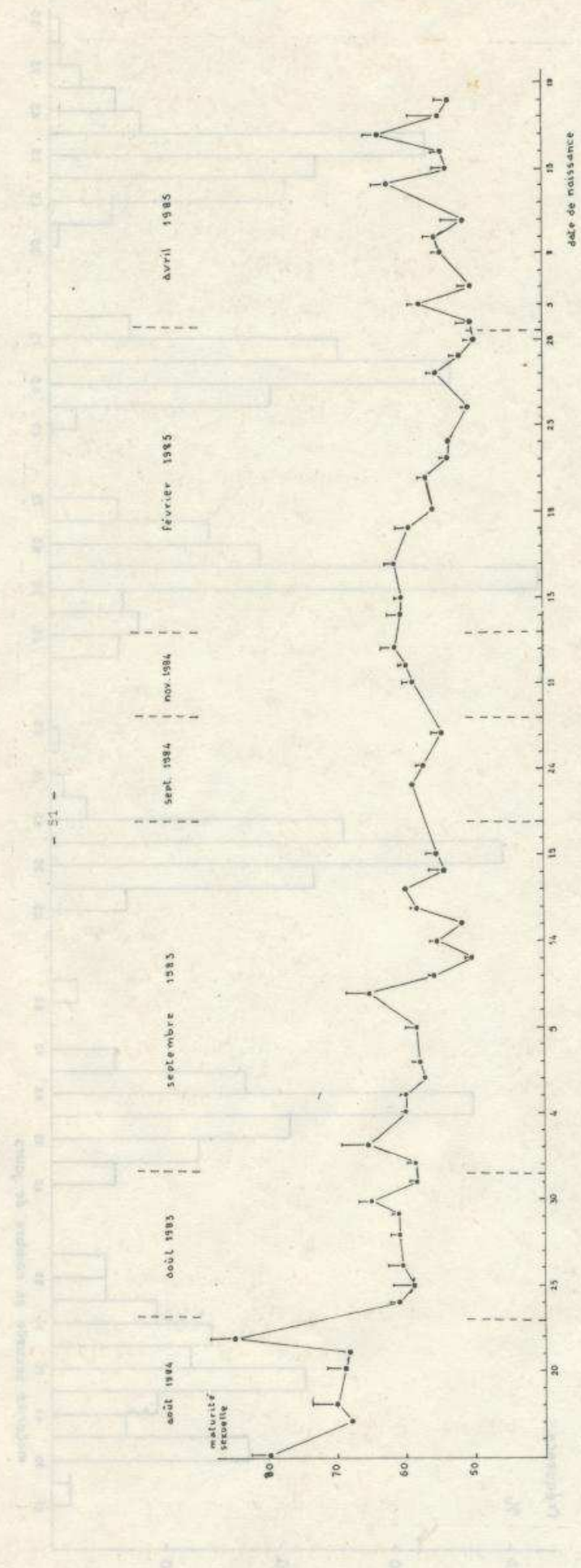


Figure 4 : Evolution de la maturité sexuelle en fonction de la date de naissance des animaux



avec une pente accentuée et quelques pics donnant à la courbe un aspect en dent de scie.

— une deuxième partie, qui comprend les mois de septembre 84, novembre 84 et février 85, où l'on observe une légère hausse suivie d'un plateau qui se termine par une courbe descendante. L'évolution y est régulière.

— la dernière partie de la courbe, celle du mois d'avril, est caractérisée par l'amorce d'une remontée de la courbe, amorce accentuée encore par la réapparition des pics.

Aux journées chaudes et de plus en plus longues de l'été, on a une réponse biologique qui est celle d'une maturité sexuelle de plus en plus précoce des animaux ayant vu le jour en été, d'où l'allure générale descendante des tracés.

Les pics signalés pendant les intersaisons, début de l'été en août et septembre, et début de l'hiver, en avril, peuvent être interprétés comme une réponse tardive aux conditions de l'hiver, lorsque s'installe l'été, et une réponse précoce lorsque s'annonce l'hiver.

#### 4. — COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :

Dans notre élevage où les animaux subissent les variations naturelles de la photopériode et de la température, la date des naissances détermine l'apparition plus ou moins précoce de la puberté : les jours longs et la température élevée abaissent l'âge de la puberté.

Ne disposant pas de salle climatisée, ni de salle à éclairage artificiel réglable, nous ne pouvons pas entreprendre l'étude de l'action séparée de la photopériode et de la température.

Par ailleurs, l'absence de données couvrant tous les mois de l'année et l'impossibilité d'obtenir un nombre de naissances homogènes dans la même journée conduisent à la prudence quant à l'interprétation de nos résultats.

Ce travail, encore fragmentaire, devrait être complété au cours des années à venir. En effet, toute étude de substances susceptibles d'avoir un impact sur le système endocrinien exigera la connaissance de ces données de base. D'autre part, celles-ci permettront d'exploiter rationnellement notre animalerie par :

— la détermination des moments les plus propices à l'accouplement,

— la planification des expérimentations.

Ces quelques observations montrent combien il est difficile

d'entreprendre des expériences pharmacodynamiques et d'en interpréter les résultats lorsqu'on ne peut pas maintenir constants les facteurs extrinsèques. Un travail d'investigation physiologique de base est indispensable bien qu'il alourdisse la recherche pharmacodynamique proprement dite.

## BIBLIOGRAPHIE

1. A. J. CRESKOFF, T. FIZ-HUGH, J. and E. J. FARRIS. Hematology of the Rat. Methods and Standards. In : The Rat in laboratory investigation. Chap. 14.  
Ed. J. Farris and Griffith. 2è ed., 1949, p. 406-420.
2. K. OKAMOTO and K. AOKI.  
Development of a strain of spontaneous hypertensive Rat.  
Japanese Circulation Journal, March 1963. Vol. 27
3. H. BRUNNER, F. GROSS.  
Cardiovascular pharmacology : Report of the main working party.  
In Pharmac. Ther., 1979. Vol. 5, p. 63-97
4. D. J. INGLE.  
The use of the rat in Biologic way of Hormones.  
The rat in laboratory investigation. Chap. 12.  
Ed. J. Farris and J. Q. Griffith, Hafner Press, 1949, p. 295-300.