

par Anne Crisinel

Un chercheur lausannois a été primé pour avoir mis au point un modèle *in vitro* qui permet d'étudier le cerveau des rats. Sclérose en plaques, attaques cérébrales ou atteintes toxiques: les domaines d'application sont nombreux.

Paul Honegger, professeur associé à l'Institut de physiologie de l'Université de Lausanne, est depuis toujours passionné par le fonctionnement du cerveau. Mais il lui est très difficile, depuis toujours aussi, de sacrifier des animaux pour mener ses travaux. Qu'à cela ne tienne. Cette allergie à la souffrance animale sera le moteur de la recherche de techniques alternatives à l'expérimentation animale. En récompense à cette philosophie qu'il applique depuis 25 ans, Paul Honegger recevra, le 24 février prochain à Genève, le Prix 2000 de la Fondation E. Naef pour la recherche *in vitro*.

Ses recherches l'ont notamment amené à fabriquer des agrégats de cellules de cerveau qui permettent de tester la toxicité de certaines substances et d'étudier les effets au niveau cellulaire de maladies telles que la sclérose en plaques ou les accidents vasculaires cérébraux. Ce modèle *in vitro* permet de diminuer d'un facteur de 200 le nombre d'animaux sacrifiés pour une expérience.

Faire pousser des «bouts» de cerveau en éprouvette n'est pas facile. Les cellules à l'origine de la culture sont prélevées dans le cerveau encore immature d'embryons de rats ou de souris (voir l'infographie). Elles sont séparées mécaniquement les unes des autres, à l'aide d'un jeu de tamis, puis mises dans un liquide à la composition totalement contrôlée. C'est la composition de ce liquide nutritif – il doit contenir tous les ingrédients permettant l'entretien et la croissance du tissu – qui a donné le plus de fil à retordre à Paul Honegger. Glucose, sels minéraux, oligo-éléments, vitamines, acides aminés, hormones... la recette comprend une cinquantaine de composants. Les cellules isolées, maintenues sous agitation constante, commencent rapidement à s'agréger et à se multiplier. Deux à trois semaines plus tard, elles forment des petites sphères qui atteignent un diamètre de 0,3 à 0,4 mm. Mais les cellules ne se contentent pas de s'agglomérer et de se multiplier: elles se différencient, deviennent

spécialisées, comme dans un vrai organe en croissance. Les neurones fabriquent leurs prolongements caractéristiques, se connectent entre eux par l'intermédiaire de synapses, et deviennent capables d'échanger des influx nerveux. Les cellules gliales qui les accompagnent – astrocytes, oligodendrocytes et microglies – remplissent leurs fonctions de soutien métabolique au réseau neuronal. De la myéline est formée. Cette substance, qui entoure certains prolongements des neurones, est essentielle à la transmission rapide de l'influx nerveux dans la cellule. Bref, le tissu obtenu contient presque toutes les cellules présentes dans le cerveau, à l'exception des vaisseaux sanguins. Et ces cellules sont manifestement fonctionnelles, puisqu'elles s'organisent, créent des connexions entre elles, savent communiquer des influx nerveux, bref, agissent comme si elles se trouvaient dans un vrai cerveau.

Ces agrégats de cellules de cerveau, qui survivent environ deux mois, ont déjà permis d'effectuer de nombreuses études *in vitro* dans divers domaines. En toxicologie, tout d'abord. Avant leur mise sur le marché, il est en effet essentiel d'examiner la toxicité des substances chimiques ou des médicaments vis-à-vis du cerveau. «Le modèle des agrégats se prête très bien à ce

type d'études, explique Marie-Gabrielle Zurich, première assistante à l'Institut de physiologie. Nous avons déjà testé la neurotoxicité de métaux lourds – le plomb et le mercure –, de certains pesticides organophosphorés et de mycotoxines, des toxines produites par certains champignons qui se développent sur des céréales stockées dans des conditions inadéquates.» Les agrégats permettent de plus de rechercher le mécanisme d'action de ces toxiques. Agissent-ils sur toutes les cellules du cerveau ou seulement sur certaines d'entre-elles? Sont-ils nocifs tout le temps ou seulement à un stade précis du développement du tissu cérébral? Le modèle des agrégats, qui mime le développement de l'organe puisque les cellules se reproduisent, se différencient et se connectent entre-elles, permet d'avoir une vision dyna-



Un agrégat de cellules de cerveau de rat. Diamètre: 0,4 millimètre.

mique de l'action d'un toxique. De même qu'il permet l'essai d'éventuels antidotes à ces poisons nerveux.

Ces sphères de tissus nerveux sont également utilisées dans la recherche de médicaments contre la sclérose en plaques. Cette maladie provoque une perte de myéline, la substance qui favorise le passage de l'influx nerveux dans la cellule, ce qui entraîne des problèmes moteurs chez les patients. «Nous avons réussi à «déméliniser» nos agrégats, donc à imiter la sclérose en plaques, poursuit Paul Honegger. Ce modèle est aujourd'hui utilisé par l'industrie dans la recherche et le développement de médicaments qui induisent la remyélinisation des cellules pour traiter la maladie.»

Les chercheurs ont enfin découvert que leur modèle *in vitro* se prête particulièrement bien à l'étude des dégâts provoqués lors d'une attaque cérébrale ou ischémie. L'arrêt momentané de la circulation sanguine, qui entraîne une perte d'approvisionnement en oxygène

et en glucose, peut être simplement simulé par une cessation de l'agitation des agrégats dans leur bocal, ce qui perturbe les échanges avec le liquide nutritif. «Il devient dès lors possible d'étudier en détail le suivi post-ischémique, de voir comment les cellules du tissu nerveux récupèrent et de tester les médicaments censés faciliter cette récupération», conclut Paul Honegger, en affirmant qu'à ce jour, la plupart de ces études sont effectuées sur des animaux vivants.

Remplacer les expérimentations sur les animaux par des essais *in vitro* présente certains avantages. Les expériences sont reproductibles, puisqu'un même cerveau donne naissance à de très nombreux agrégats; elles sont moins complexes puisque les «organes» sont envisagés isolément; elles permettent de faire des expériences sur les mécanismes d'action des médicaments, ce qui est souvent plus difficile sur l'animal; elles sont moins chères; et bien sûr beaucoup moins cruelles. Mais elles ne sauraient remplacer totalement les essais *in vivo*, selon Paul Honegger qui l'admet volontiers malgré ses propres réticences: «L'agrégat en trois dimensions donne sans doute plus de renseignements qu'une simple culture de cellules en mono-couche. Il peut donc être utilisé lors de tests intermédiaires, dans la recherche d'un médicament par exemple, et donc sauver de nombreuses vies animales. Mais il ne remplace pas l'organisme entier et ses nombreuses fonctions, hépatiques, rénales, endocrines, immunitaires..., dont il faut aussi tenir compte et qu'il est difficile d'imiter à la perfection en éprouvette.»

