

Prédire la toxicité des médicaments sans tests sur les animaux

Thomas Hartung, Bloomberg School of Public Health, université Johns-Hopkins, Baltimore, États-Unis

Un mini-cerveau, créé à partir de cellules cutanées reprogrammées, permet d'étudier les effets pharmacologiques et toxicologiques de médicaments en phase de développement. S'appuyant sur des algorithmes d'apprentissage automatique, cette stratégie s'impose comme une option crédible pour remplacer l'expérimentation animale.

Dans *La Science et l'Hypothèse*, paru en 1902, le mathématicien, physicien et philosophe Henri Poincaré expliquait : « *On fait la science avec des faits, comme on fait une maison avec des pierres ; mais une accumulation de faits n'est pas plus une science qu'un tas de pierres n'est une maison.* (1) » À l'heure actuelle, une bonne partie de la science emprunte pourtant cette direction : nous étudions les cellules et les molécules – les briques – sans nous soucier de l'organisme

– la maison. Cette approche déconstructiviste a sans doute été utile, voire nécessaire. Trop souvent néanmoins, elle nous a rendus incapables d'avoir une vision globale, de prendre du recul. Si cela ne pose pas de difficulté quand il s'agit simplement de publier un nouvel article scientifique, c'est nettement plus problématique quand l'enjeu est de déterminer si un médicament peut être testé chez les humains ou si un produit chimique peut être mis sur le marché.

Pour cette raison, la science de l'évaluation des risques a toujours été très réticente à l'idée d'intégrer



MÉDECIN ET TOXICOLOGUE

Ancien responsable du Centre européen pour la validation des méthodes alternatives, de 2002 à 2008, Thomas Hartung travaille au développement de nouvelles approches en toxicologie fondées sur la génomique.

de nouvelles approches. Les protocoles pour les tests sur animaux – le type de tests le plus répandu dans la recherche – n'ont pas évolué depuis qu'ils ont été mis au point il y a plus d'un demi-siècle. Incroyable, non ? Aucun autre domaine de la science ne repose sur des méthodes aussi « préhistoriques ». Mais le système a ses limites : les tests sur les animaux coûtent cher, ils requièrent beaucoup de travail et ne peuvent pas être automatisés. On estime ainsi que le processus d'évaluation de la salubrité d'un nouveau pesticide nécessite un investissement supérieur à 20 millions de dollars (environ 17 millions d'euros), plus de cinq ans de tests, et la production d'environ 20 kg de la substance pour mener l'ensemble des vérifications (2). Autrement dit, cette procédure est impossible à mettre en place pour des produits chimiques autres que des pesticides et des médicaments, car les cycles de ●●●

Contexte

Les tests sur les animaux sont au cœur de la pratique en toxicologie depuis des décennies. Mais cette approche, qui suppose beaucoup de temps et d'argent, est de plus en plus critiquée. Des spécialistes réfléchissent donc à d'autres méthodes. Les plus prometteuses, ces dernières années, se fondent sur les progrès de la génomique et de l'informatique.

... vie des produits et les marges bénéficiaires ne permettent pas de telles dépenses.

Mais il existe une autre solution, que nous avons baptisée récemment « l'approche des 3 S » : la toxicologie systémique, qui comprend l'analyse systématique des revues

Ces organoïdes représentent la physiologie à petite échelle et leur usage est sans limite

scientifiques et le développement de systèmes expérimentaux computationnels (3). La toxicologie systémique décrit les possibles effets néfastes à long terme des substances sur l'ensemble de l'organisme, qui peuvent aller de la maladie chronique au cancer, en passant par les troubles de la reproduction ou pour la descendance, par épigénétisme (*).

L'analyse systématique des revues scientifiques est une manière différente de traiter les informations existantes ; elle vise à évaluer et à condenser la littérature d'une manière objective et transparente, dans l'esprit de la médecine fondée sur les preuves. En définissant en amont des questions, en listant des critères d'inclusion et d'exclusion, en mettant en place un système évaluant la qualité et le poids des preuves grâce à la méta-analyse des études récupérées, nous cherchons à obtenir le diagnostic le plus complet et le plus objectif possible des connaissances existantes. La démarche étant transparente, les pairs peuvent facilement vérifier par eux-mêmes les conclusions.

Par ailleurs, la toxicologie des systèmes expérimentaux fait référence aux organoïdes : des systèmes de test in vitro qui reproduisent, sur puce, l'architecture des organes.

Ces structures multicellulaires tridimensionnelles connaissent actuellement un succès fulgurant. Alimentés par les technologies de cellules souches et la bio-ingénierie, de plus en plus de modèles d'organes émergent ; ils reflètent certains aspects de la configuration, de la fonctionnalité et des interactions des organes in vivo. Notre groupe a ainsi mis au point des mini-cerveaux à partir de cellules cutanées humaines reprogrammées. Ces protocoles de reprogrammation permettent de faire retourner les cellules au stade embryonnaire – ce qui signifie qu'elles peuvent à nouveau se développer en n'importe quel type de cellule du corps humain. Outre des mini-cerveaux, il est ainsi possible de faire des minicœurs, des mini-foies, etc.

Dans notre cas, nous avons transfecté (*) des fibroblastes cutanés afin d'obtenir nos cellules souches immatures, dites « pluripotentes induites », capables de se retransformer ensuite en n'importe quel type de cellule du corps. Cette méthode a été publiée en 2006 et a déjà fait l'objet d'un prix Nobel en 2012 en raison de son impact révolutionnaire sur les sciences de la vie.

Hautement reproductible

À l'aide de protocoles spécifiques, qui nous ont permis d'ajouter des molécules de signalisation – importantes pour le développement embryonnaire –, nous avons ensuite produit des cellules souches du cerveau (neuroblastes). À ce stade, nous récoltons les cellules de la boîte de culture, la suspension cellulaire obtenue étant ensuite cultivée par agitateur afin de garder les cellules en mouvement permanent. Cela les oblige dès lors à se transformer en sphéroïdes, de moins de 0,5 mm – le diamètre précis de ces sphères étant déterminé par la densité cellulaire et la vitesse d'agitation. Le

90 %

C'EST L'EFFICACITÉ avec laquelle la méthode mise au point par Thomas Hartung et son groupe a permis de prédire les toxicités connues de 20 000 produits chimiques.

(*) **L'épigénétique** est l'ensemble des mécanismes moléculaires qui, sans transformer le génome, modifient l'expression des gènes.

(*) **La transfection** désigne l'introduction, sans l'utilisation d'un virus comme vecteur, de matériel génétique exogène dans des cellules eucaryotes ; elle s'oppose ainsi à la transduction.

(*) **L'apprentissage automatique** est un champ d'étude qui concerne la conception, l'analyse, le développement et l'implémentation de méthodes algorithmiques permettant à une machine (au sens large) d'évoluer par un processus systématique, et ainsi de remplir des tâches de plus en plus difficiles.

gros avantage de ce protocole est sa reproductibilité, et donc le contrôle qualité des sphéroïdes en termes de taille et de composition cellulaire.

Nos mini-cerveaux reproduisent les différents neurones du cerveau, ainsi que leurs cellules auxiliaires (les astrocytes et les oligodendrocytes) ; ensemble, ils forment le système nerveux central. Ces organoïdes reproduisent aussi des parties de l'architecture et de la fonctionnalité du cerveau : les neurones se connectent et se mettent à communiquer, formant des réseaux électriques ; les oligodendrocytes isolent et protègent les axones (le prolongement du neurone qui conduit le signal électrique du corps cellulaire vers les zones synaptiques) avec la myéline, et les astrocytes (les cellules qui forment l'environnement des neurones dans le système nerveux central) protègent les neurones.

C'est ce que l'on entend par microphysiologie : ces organoïdes représentent la physiologie à petite échelle. Ce sont de petites maisons, pas seulement des briques, pour reprendre la métaphore d'Henri Poincaré. En cela, ils sont très différents des cultures cellulaires traditionnelles, où les cellules se trouvent dans leur boîte de Petri comme des œufs dans une poêle. Car ces organoïdes sont aussi mille fois plus denses, permettant tous les contacts cellule-cellule qui font la quintessence d'un organe.

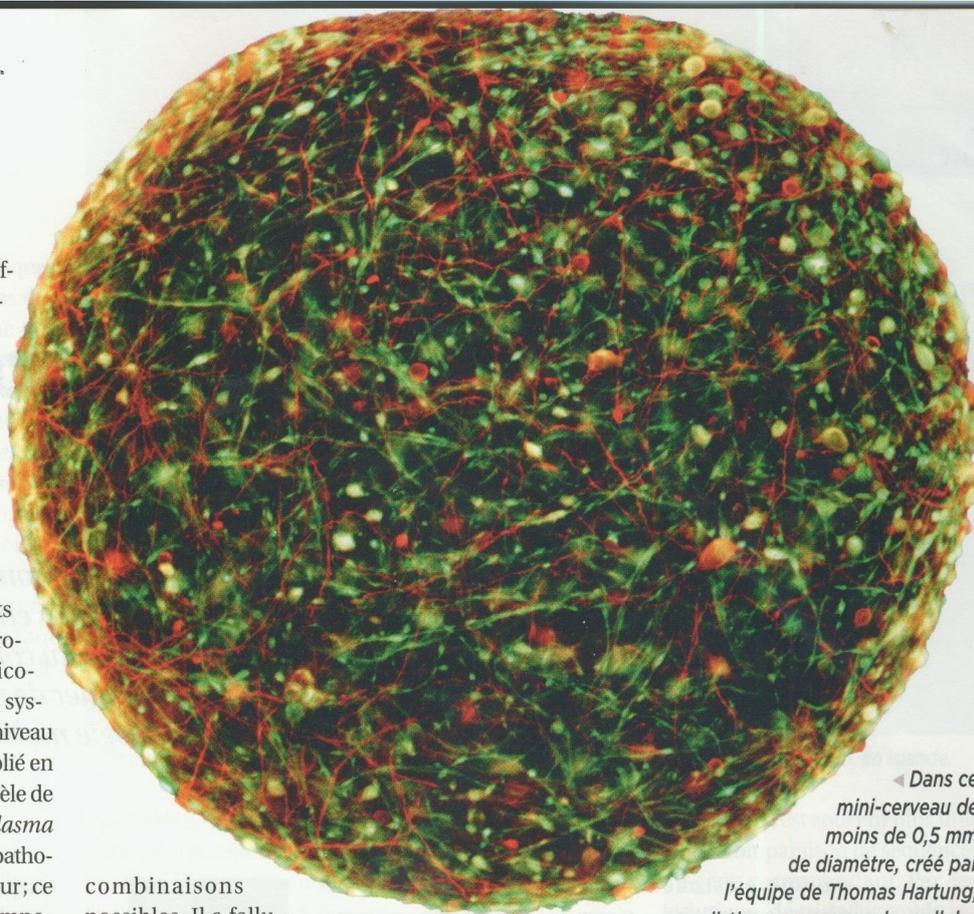
Ces mini-cerveaux, hautement reproductibles comme nous l'avons expliqué plus haut, permettent d'étudier le développement cérébral, ainsi que les effets pharmacologiques et toxicologiques. Ils peuvent être fabriqués à partir de différents donneurs et même de divers groupes de patients, dont ceux atteints de maladies génétiques. Ils peuvent être infectés par des virus, des bactéries et d'autres pathogènes.

Enfin, il est possible de les greffer avec des tumeurs cérébrales pour étudier leur réponse à la chimiothérapie. Bref, leur utilisation est sans limite.

Parallèlement à ces progrès en bio-ingénierie, la révolution informatique nous fournit de nouveaux outils pour la modélisation, l'intégration des résultats des tests et même la prédiction des propriétés toxiques. Cette toxicologie computationnelle des systèmes est déjà une réalité au niveau des bactéries : un article publié en 2012 proposait ainsi un modèle de cellule entière pour *Mycoplasma genitalium*, agent infectieux pathogène du système reproducteur ; ce modèle incluait tous les composants cellulaires et leurs interactions (4). Des modèles d'embryon ou de foie virtuels sont en cours de réalisation. L'ambition ultime est la création d'un patient virtuel, un avatar humain, qui permettrait de concevoir des traitements médicamenteux virtuels pour la population humaine – par exemple, une femme de 60 kg – ou, dans le futur, pour un individu donné – un homme diabétique de 120 kg.

Deux jours de calcul

Le big data et l'apprentissage automatique (*) accompagnent ces développements. Des bases de données de plus en plus vastes sont établies en toxicologie et ailleurs. Notre groupe s'est intéressé à l'utilisation de la similarité de structure chimique des substances ou d'ingrédients actifs pour prédire la toxicité d'un produit. Le concept de départ était simple : une structure similaire équivaut à une propriété similaire. Le problème est que les chimistes ont synthétisé plus de 70 millions de structures – soit plus de 30 000 milliards de



◀ Dans ce mini-cerveau de moins de 0,5 mm de diamètre, créé par l'équipe de Thomas Hartung, on distingue, en rouge, les cellules indifférenciées et, en vert, les neurones matures.

combinaisons possibles. Il a fallu deux jours aux superordinateurs du cloud d'Amazon pour nous calculer une cartographie des produits chimiques classés en fonction de leur degré de similarité. Pour environ 20 000 d'entre eux, nous avons trouvé des données relatives à des résultats de toxicité sur les animaux de laboratoire. Maintenant, nous sommes en mesure de trouver la place de n'importe quel produit chimique sur cette carte et de voir ce que nous savons des molécules voisines. D'après le postulat initial, celles qui sont proches des « mauvaises » molécules risquent d'être elles-mêmes toxiques – et celles qui sont dans les environs des « gentilles », beaucoup moins. Nous espérons que cette approche permettra de révolutionner l'évaluation des risques des produits chimiques. En tout cas, nos résultats préliminaires, prédisant toutes les toxicités connues de ces 20 000 produits chimiques, sont particulièrement encourageants : l'ordinateur est exact dans plus de 90 % des cas. Autrement dit, cette méthode est



▲ L'EuroScience Open Forum (Esof), auquel participe Thomas Hartung, se déroule du 9 au 14 juillet, à Toulouse. Plus d'infos sur www.esof.eu/en

English version

Cet article, traduit en anglais, est à lire sur researchinfrance.com

aussi bonne, voire meilleure, que l'expérimentation animale. Faisons néanmoins nôtre la règle d'or en bio-informatique, qui dit : « Mauvaises données à l'entrée, mauvais résultats à la sortie. » Jusqu'à ce que nos résultats aient été vérifiés par une équipe indépendante, ils doivent donc être traités avec prudence. Lorsque ces études de validation seront approuvées, elles constitueront la base d'une évaluation comparable à celle de l'expérimentation animale actuelle. Il sera alors possible d'utiliser ces nouvelles approches de toxicologie des systèmes pour améliorer véritablement la sécurité des consommateurs. Nous disposerons alors d'une maison en briques, mais en mieux, avec des composants et un design modernes. ■

- (1) Henri Poincaré, *La Science et l'Hypothèse*, Flammarion, 1902.
- (2) A. A. Bottini et T. Hartung, *Altex*, 26, 3, 2009.
- (3) L. Smirnova et al., *Altex*, 35, 139, 2018.
- (4) J. R. Karr et al., *Cell*, 150, 389, 2012.