



ASSEMBLÉE NATIONALE

10ème législature

Politique de la recherche

Question écrite n° 9428

Texte de la question

M. Patrick Balkany insiste auprès de M. le ministre de l'agriculture et de la pêche pour qu'il lui fasse connaître quels laboratoires ont bénéficié entre 1988 et 1989 de l'action incitative concernant le développement de méthodes de tests *in vitro* de toxicité aiguë, financée pour un montant de 2,5 millions de francs, et pour quelle part respective. Il lui demande aussi quels résultats ont été obtenus et s'ils ont été suivis d'effets, comme requis par le décret no 87-848. Il lui demande enfin si cette action a été renouvelée et dans quelles conditions.

Texte de la réponse

Le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche soutient régulièrement et de manière active des recherches et études sur les techniques *in vitro* de façon à favoriser leur utilisation préférentielle en tant que méthodes de remplacement de l'animal. Pour la période de 1988-1989, le ministère a lancé une action incitative de recherche sur le développement de méthodes *in vitro* alternatives aux tests de toxicité aiguë effectués sur l'animal, pour un budget global de 2 500 000 F. Deux réseaux de laboratoires ont été créés. Chaque réseau a abordé ces études multicentriques selon deux axes différents. 1) Amélioration des modèles cellulaires et mise au point de nouvelles méthodes d'évaluation du « signal toxique ». Les laboratoires suivants ont bénéficié d'un contrat : Laboratoire de pharmacologie cellulaire, Ecole pratique des hautes études, Paris, et Laboratoire de génétique moléculaire de l'université de Paris-XI, Orsay (290 000 F) ; Laboratoire interdisciplinaire de recherche en biologie appliquée de l'Ecole normale supérieure, Cachan (240 000 F) ; Laboratoire d'oncologie moléculaire de l'Institut Gustave-Roussy, 94805 Villejuif (240 000 F) ; Laboratoire de biologie moléculaire et différenciation de l'Université Paris VI, Paris (240 000 F) ; Unité de génétique moléculaire U 273 Inserm, centre de biochimie (240 000 F). Le thème général des contrats a porté prioritairement sur l'immortalisation des différents types cellulaires *in vitro* : cellules de l'épithélium intestinal, cellules endocrines pancréatiques, cellules nerveuses et articulaires, ou l'établissement de lignées à partir de souris transgéniques, dans le but de pouvoir pratiquer *in vitro* des expérimentations pharmacologiques et biochimiques sur des populations cellulaires homogènes, disponibles en grande quantité. L'approche méthodologique des quatre premiers projets a consisté à tenter d'assurer la croissance et la pérennité des cellules en culture par transfection avec des gènes « immortalisants », sans pour autant entraîner les phénomènes de différenciation régulièrement observés au cours de l'établissement de lignées classiques. En effet, ces phénomènes de différenciation constituent un des obstacles majeurs à l'utilisation des cellules et limitent la valeur des réponses obtenues dans des épreuves à visées toxicologiques. L'immortalisation des types cellulaires étudiés a pu être obtenue en employant différents oncogènes. Cependant, l'ensemble des résultats montre que cette immortalisation est souvent accompagnée d'une perte ou d'une modification de l'expression des fonctions spécifiques des cellules. Une équipe a abordé un thème totalement différent : l'immobilisation de cellules diverses dans des gels d'alginate. Les auteurs ont trouvé qu'à l'état immobilisé les cellules conservaient des potentialités physiologiques importantes : division et expression de fonctions spécifiques. Les différents contrats ont donné lieu à seize publications dans des revues internationales et quatorze présentations orales ou posters à des congrès. 2) Étude de l'hépatotoxicité aiguë « *in vitro* ». Cette étude multicentrique portant sur l'évaluation de la cytotoxicité aiguë *in vitro* des médicaments et

autres substances chimiques a implique six laboratoires des secteurs public et prive : Unite de recherches hepatologiques, U 49 Inserm (250 000 F) ; Unite de recherches et valorisation en pharmacocinetique et toxicocinetique, U 278 Inserm (200 000 F) ; Centre de recherches de genotoxicite et teratologie, Centre de recherches Roussel-Uclaf, Romainville (200 000 F) ; Laboratoire de toxicogenetique, Sanofi-Recherche, Montpellier (200 000 f) ; Departement de toxicologie, Rhone-Poulenc Sante, Vitry-sur-Seine (200 000 F) ; UDC CNRS INSERM (UA400), Laboratoire de Chimie et de biochimie pharmacologiques et toxicologiques, Paris (200 000). L'objectif etait de standardiser, a une large echelle, l'emploi de cellules hepatiques isolees en suspension ou en culture, afin de tester in vitro la toxicite de molecules de facon tres reproductible et permettant une bonne correlation avec les observations in vivo « . Un protocole experimental bien defini a ete elabore et a necessite de doter chaque laboratoire de methodes d'evaluation automatisees et miniaturisees. Trente composes codes et l'erythromycine utilisee comme molecule de reference ont ete testes sur la base de quatre criteres de cytotoxicite non specifiques, a la fois sur des hepatocytes de rat en culture primaire et sur la lignee d'hepatome de rat FaO. Pour chaque test, la CI 50 (concentration qui provoque une diminution d'activite ou de proteines de 50 p. 100) a ete calculee. L'analyse des resultats montre : une bonne reproductibilite intra et interlaboratoire ; un plus grand nombre de composes plus cytotoxiques pour les hepatocytes par rapport aux cellules d'hepatomes ; une correlation entre les CI 50 et les DL 50 i.v. (mais pas avec les DL 50 i.p. ou peros). Toutefois, pour quelques composes, des differences ont ete observees entre les resultats obtenus in vitro et les donnees in vivo (notamment pour les composes volatiles). Au total, le protocole utilise apparait tres utile pour un premier criblage de molecules, mais il doit etre adapte pour des molecules ayant des proprietes particulieres (composes volatiles par exemple), et des parametres fonctionnels specifiques doivent etre utilises pour aborder les mecanismes de toxicite. Cette etude multicentrique a donne lieu a la publication de 3 articles dans des revues internationales et a 3 presentations orales et posters a des congres. En 1991 a ete initie un nouveau programme de recherche sur deux annees intitule : » Evaluation in vitro de la nephrotoxicite medicamenteuse par l'utilisation de cultures primaires tubulaires proximales de lapins exposees a differents xenobiotiques « . Ce faisant, le ministere de l'enseignement superieur et de la recherche accomplit sa mission qui, dans ce domaine, est d'initier et de dynamiser des recherches sur les differentes methodes alternatives devant permettre d'eviter, ou au moins de reduire, l'utilisation d'animaux vivants.

Données clés

Auteur : [M. Balkany Patrick](#)

Circonscription : - RPR

Type de question : Question écrite

Numéro de la question : 9428

Rubrique : Recherche

Ministère interrogé : agriculture et pêche

Ministère attributaire : enseignement supérieur et recherche

Date(s) clé(s)

Question publiée le : 20 décembre 1993, page 4546

Réponse publiée le : 28 mars 1994, page 1546