

NUMÉRO SPÉCIAL COLLOQUE

RAFFINER L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE : Pourquoi et comment perfectionner ?

Les principaux objectifs de l'OPAL sont de favoriser le développement de méthodes alternatives en expérimentation animale et d'améliorer le bien-être des animaux pendant leur hébergement et au cours des expérimentations.

Nous œuvrons ainsi pour une meilleure prise en compte de la fameuse règle des 3 R de Russell et Burch énoncée il y a un peu plus de 50 ans : remplacer, réduire, raffiner...

Aussi avons-nous entrepris d'organiser des colloques sur le thème de chacun de ces 3 R. En octobre 2003 a été traité le remplacement et en octobre 2008, la réduction.

Ce 21 octobre 2010 nous avons abordé le 3^e R, c'est-à-dire le « raffinement », sous la

présidence du docteur Axel Kahn, président de l'Université Paris Descartes.

Au cours de cette journée, il a beaucoup été question d'éthique en matière d'expérimentation animale. Les différents aspects du raffinement, c'est-à-dire la prise en compte du bien-être des animaux avec en particulier la gestion de la douleur, ont également été développés.

Ont aussi été traitées les questions que doit se poser l'expérimentateur avant de passer à l'acte et sa responsabilité que l'on considère maintenant comme le 4^e R. Nous remercions chaleureusement les conférenciers de cette journée dont les contributions sont rassemblées ici. ■

Sommaire

Introduction	3	4. Le raffinement dans les expérimentations	23
1. Historique de l'émergence de l'éthique dans nos sociétés	5	5. Douleur, bien-être et raffinement en expérimentation animale. Quels rapports ?	26
2. Les modèles animaux et les neurones-miroirs du singe : Intérêt du raffinement dans l'expérience animale	12	6. La démarche éthique de l'expérimentateur	31
3. Mise en application de la règle des 3 R dans les études de sécurité du médicament : partage d'expérience vécue dans le domaine de l'hébergement.....	21	7. Les limites des techniques « raffinantes »	35
		8. Le 4 ^e R : la Responsabilité de l'expérimentateur	40
		Conclusion	43

Introduction

*Généticien, écrivain, philosophe, Président de l'Université Paris Descartes, **Axel Kahn** avec son éloquence habituelle pose d'emblée les questions qui interpellent les participants :*

Qu'est-ce que l'éthique en expérimentation animale ?

Quels sont les devoirs de l'homme envers l'animal ?

Quelle est la responsabilité de l'expérimentateur vis-à-vis de l'animal ?

Réduire, Remplacer, Raffiner, la règle des 3 R a été énoncée il y a un peu plus de 50 ans.

Dans les expérimentations à visée thérapeutique, si on peut réduire le nombre d'animaux utilisés et qu'on peut ménager l'animal en situation expérimentale, rien ne peut remplacer les systèmes physiologiques intégrés et les systèmes biologiques complexes.

Au nom de quoi devrait-on appliquer la règle des 3 R si ce n'est au nom de la Responsabilité (le 4^e R ?) qui considère cette exigence comme une conséquence des droits de l'animal et quelle est alors la responsabilité du chercheur sur le droit de l'animal ?

On peut distinguer 2 niveaux de droit : entre le bénéficiaire et le gain du bénéfice :

L'animal objet de droits ?

La notion de droit de l'animal a beaucoup évolué au fil des âges. Cette notion fait de l'animal un être **singulier** qui le rend respectable vis-à-vis de l'homme.

L'homme objet de devoirs ?

L'homme qui respecte la valeur animale en tant qu'être singulier en fait alors un devoir pris comme règle de protection animale. D'où la nécessité pour le législateur d'édicter un code du respect des droits de l'animal qui s'oppose à la loi de la nature motivée par l'instinct animal comme l'instinct de prédation.

Le primate humain croit être libre parce qu'il est libre de choisir et cette liberté de choix conditionne le sentiment de responsabilité qui est la résultante d'une liberté et non d'une contrainte liée au déterminisme : l'Homme se pense libre et responsable ; la responsabilité est l'élément majeur qui marque la disparité entre humain et non humain.

La responsabilité animale est-elle absurde ? Des animaux ont pourtant été condamnés par le passé !

Dans l'ancien testament de la Bible, la dualité Homme – animal implique une domination naturelle et une profonde cohérence entre les deux entités : l'Homme a « l'usufruit de tout ce qui vole, rampe, nage, et Yahvé, après avoir créé l'Homme au 6^e jour, lui donne possession du monde vivant » et l'Homme en abuse.

Dans l'épisode de l'Arche de Noé, le Créateur réintroduit l'Homme dans le monde animal par une alliance entre créateur et créature.

L'homme responsable devenu « animal de vérité » qui a poursuivi et pénétré la nature a appris de cette nature :

- que les animaux étaient aussi des créatures de Dieu à l'image de l'Homme
- que l'Homme et l'Animal ont un ancêtre commun.

Dans ce contexte, l'expérimentation animale est un moyen privilégié pour approcher la connaissance des mécanismes de la vie à l'exemple de l'étude du rôle endocrine du pancréas par Claude Bernard.

Ces explorations ont montré que finalement, cet animal singulier fonctionnait d'une manière très comparable à la nôtre (notions de physiologie comparée) et présentait même une extraordinaire proximité génétique...

Cette proximité génétique et physiologique est aussi celle des douleurs partagées (mêmes mécanismes fondamentaux de la douleur utiles pour l'étude des antalgiques).

De même, pour étudier certaines fonctions mentales chez l'Homme, on a utilisé des modèles animaux (rat, souris...) puis on a créé des animaux transgéniques pour étudier les conséquences des modifications génétiques. Ainsi la modification des gènes de la cascade de la sérotonine a permis l'accès aux mécanismes de l'anxiété et du stress humain, par l'expérimentation animale, pour compléter l'observation comportementale.

Ainsi l'animal souffre comme l'homme souffre et l'être responsable ne peut l'ignorer. L'évidence de la responsabilité découle de cette prise de conscience et faire souffrir l'animal ou créer le mal-être (exemple des stéréotypies) alors que l'homme sait ce que l'animal ressent, devient un acte immoral.

La connaissance entraîne une responsabilité qui conduit à une situation immorale si on inflige à l'animal, douleur, anxiété, stress, sans justification. Axel Kahn ne justifie pas pour autant le « jusqu'aboutisme » des anti-vivisectionnistes car l'homme est contraint de faire des choix entre le meilleur et le moins mauvais ! On peut citer l'exemple de la « médecine de brousse » où les ordres de priorité deviennent difficiles à établir...

Dans ce contexte d'âme et de conscience, on peut légitimer la conduite d'une recherche expérimentale en préservant l'animal du mieux possible, pour peu qu'une amélioration thérapeutique pour l'homme ou l'animal lui-même s'en suive et l'OPAL ne néglige pas ces aspects. ■

Rédaction d'après les notes d'Evelyne Huguet et de Philippe Delis, prises en séance

OPAL
RECHERCHE EXPÉRIMENTALE
ET PROTECTION DE L'ANIMAL DE LABORATOIRE

REPLACER. RÉDUIRE. RAFFINER
(Russell et Burch-1959)

RAFFINER
L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE :
Pourquoi et comment perfectionner ?

$$K(k) = \int_{-\infty}^{\infty} f(\omega) e^{jk\omega} d\omega$$

COLLOQUE OPAL
SOUS LA PRÉSIDENTIE DE
AXEL KAHN

JEUDI 21 OCTOBRE 2010
MAISON DE LA CHIMIE
28, RUE SAINT-DOMINIQUE, 75007 PARIS

1 Historique de l'émergence de l'éthique dans nos sociétés

Christian Byk

Magistrat,
Secrétaire général de l'Association internationale droit, éthique et science.

Résumé

Dans un essai rédigé en 1967, K. O. Apel décrivait la situation paradoxale dans laquelle se trouve la philosophie morale : sous la pression d'avancées scientifico-technologiques, qui engagent le destin planétaire de l'espèce humaine, le besoin d'une éthique universelle se fait sentir avec acuité mais en même temps « la tâche philosophique de fonder en raison une éthique universelle n'a jamais été aussi ardue, voire désespérée » (*L'éthique à l'âge de raison, l'a priori de la communauté communicationnelle et les fondements de l'éthique, traduction française de R. Lellouche et J. Mittman, Lille, Presses Universitaires, 1987*).

Ce qui est vrai de la philosophie morale, l'est aussi, dans une certaine mesure, du droit. Le doyen R. Savatier rappelait, à ce propos, que « toutes les fois qu'une civilisation se transforme, on assiste non à un déclin mais à une crise du droit. Celui-ci se cherche dans des ébauches encore informes » (*Le droit et l'accélération de l'histoire, D. 1951, ch. VIII, p. 32/b2*).

Notre monde serait-il alors devenu un monde sans éthique, un monde sans droit, autrement dit un monde sans valeur ? À cet égard, la bioéthique ne pourrait bien être qu'une manière d'interroger notre société sur la légitimité de ses rapports étroits avec la technoscience.

■ La jeune histoire de la bioéthique

Le terme « bioéthique » apparaît en 1971 dans le titre de l'ouvrage de Van R. Potter (*Un pont vers le futur*). Il trouve ses origines dans un double phénomène : la révolution biomédicale d'une part, la crise de l'éthique universelle, d'autre part.

● La révolution biomédicale

> Conséquences du progrès des sciences biomédicales

Comment ignorer les résultats les plus spectaculaires du progrès des sciences de la vie ? En outre, génétique et biotechnologies ont connu un développement tel que nos connaissances sur la vie en général s'en trouvent profondément modifiées.

Au-delà de ce constat, il nous apparaît important de mettre l'accent sur deux éléments essentiels de la révolution biomédicale : elle laisse apparaître les promesses et les dangers d'un pouvoir nouveau ; elle s'inscrit dans un contexte de rapports étroits entre science et société.

> Nouveau pouvoir « biomédical »

Si nous vivons une révolution scientifique, qui a débuté il y a plusieurs siècles, la révolution biomédicale ne saurait pour autant en être considérée comme une simple étape.

En effet, aujourd'hui, il n'est plus possible d'ignorer que le but, sinon l'objet, de la science nouvelle est de reconstruire l'homme et non plus seulement de le traiter. Ce

faisant, la révolution biomédicale a créé deux incertitudes.

La première est une incertitude en amont sur ce qu'est l'être humain en tant qu'individu ou espèce. En introduisant l'être humain dans le champ des interventions transformatrices, le développement scientifique rend caduques nos références anthropologiques. Si les procréations artificielles transforment le sens de la parenté, le diagnostic génétique et la thérapie génique donneront-ils une autre signification aux notions d'individu et d'espèce ?

La seconde incertitude est en aval et touche les effets des interventions rendues possibles par le développement des sciences biomédicales.

Les possibilités de la prévision scientifique quant aux conséquences du développement des biotechnologies n'apparaissent-elles pas limitées par rapport aux risques encourus ?

Il aura fallu que notre environnement soit affecté par toute une série de catastrophes pour que nous prenions conscience de cette nécessité de prévoir les effets à long terme des activités humaines.

L'ignorance et la complexité de ces effets rend nécessaire plus que jamais un travail interdisciplinaire. Mais au-delà de ces échanges, ce sont les « citoyens du monde » qui devront, parce qu'ils auront à en subir les effets fastes ou néfastes, être associés au processus de décision.

> Rapports entre science et société

C'est sans doute parce que le temps de la science pure par rapport à la science appliquée est révolu que les liens entre science et société se sont faits plus étroits et cela est particulièrement apparent avec la révolution biomédicale.

□ Établissement de liens institutionnels

Il existe un lien organique entre les nécessités actuelles du développement et la société, en tant qu'organisation indispensable au bon fonctionnement des activités humaines collectives.

La complexité des recherches, leur coût les rendent dépendantes de l'effort qu'un pays peut accepter ou non de leur consacrer. Et pour mobiliser cet effort, la recherche requiert des structures d'accueil, des filières de formation...

Les progrès de la recherche sur le SIDA sont ainsi largement tributaires des moyens et des structures que met à disposition une politique volontaire. Ce dernier exemple montre que l'enjeu de la recherche est tel qu'elle ne peut souvent se satisfaire des efforts faits par un seul pays.

□ Prise de conscience des conséquences sociales du développement scientifique et technologique

Si l'institutionnalisation de la science et de la recherche a pris plusieurs décennies, la prise de conscience par la société que science et recherche relèvent de la sphère sociale a été plus rapide, parfois plus brutale.

La mise en cause d'un certain positivisme scientifique remonte en effet aux années 1960.

La vague de contestation des pouvoirs établis qui secoua le monde occidental n'épargna pas l'« establishment » scientifique, mais l'intérêt de ce mouvement tient moins au caractère novateur de ses idées qu'au développement rapide qu'elles ont connu dans un large public.

Ainsi, les conditions de l'expérimentation chez l'homme ont été rapidement remises en cause par la révélation d'un certain nombre d'abus. En 1966, un article publié par le Dr H. Beecher, citant 22 cas où des recherches avaient été conduites sans le consentement des personnes, contribua à mettre en cause la relation entre le médecin (chercheur) et son patient.

Au-delà de l'indignation se profilait la contradiction entre deux éthiques : celle, « traditionnelle », du médecin, qui vise à donner à chaque patient les soins les plus appropriés dans l'état actuel de la science, et celle du chercheur, qui veut mettre toutes les ressources de la méthode expérimentale au service de la connaissance des effets d'une thérapeutique. C'est l'opposition entre une éthique de prudence et une éthique du risque.

En 1975, à Asilomar (États-Unis), des scientifiques s'interrogèrent sur les risques que pouvait engendrer la création de nouveaux micro-organismes par « manipulations » génétiques.

Dix ans plus tard, l'Europe connaissait, avec les nouvelles technologies de la reproduction, et la médecine génétique, des réactions sociales.

La nature du débat qui s'est instauré sur les rapports que la science doit entretenir avec la société est ainsi devenue, au sens strict du terme, politique.

En même temps que cette évolution s'accomplissait, s'affirmait une des crises les plus graves de l'éthique universelle.

● Crise de l'éthique universelle

Situation paradoxale ? Dans un essai rédigé en 1967, K. O. Apel décrivait la situation paradoxale dans laquelle se trouve la philosophie morale : sous la pression d'avancées scientifico-technologiques, qui engagent le destin planétaire de l'espèce humaine, le besoin d'une éthique universelle se fait sentir avec acuité mais en même temps « la tâche philosophique de fonder en raison une éthique universelle n'a jamais été aussi ardue, voire désespérée » (L'éthique à l'âge de raison, l'a priori de la communauté communicationnelle et les fondements de l'éthique, traduction française de R. Lellouche et J. Mittman, Lille, Presses Universitaires, 1987).

Ce qui est vrai de la philosophie morale, l'est aussi, dans une certaine mesure, du droit. Le doyen R. Savatier rappelait, à ce propos, que « toutes les fois qu'une civilisation se transforme, on assiste non à un déclin mais à une crise du droit. Celui-ci se cherche dans des ébauches encore informes » (Le droit et l'accélération de l'histoire, D. 1951, ch. VIII, p. 32/b2).

Notre monde serait-il devenu un monde sans éthique, un monde sans droit, autrement dit un monde sans valeur ?

L'explication la plus souvent formulée est pourtant différente. Elle se situe non dans un constat de vide moral ou juridique mais plutôt dans celui d'une multitude de valeurs difficilement conciliables. Quelle que soit la force de cette explication, son importance est considérable car c'est elle qui constitue le point de départ de la bioéthique.

> Refus des valeurs imposées

Fréquentes ont été les périodes de l'histoire où les rapports entre science et société ont été très étroits. Le procès fait à Galilée est un exemple, aux dépens de la science, de cet enjeu de pouvoirs de nature idéologique. A l'inverse, la révolution scientifique du siècle des Lumières allait être le ferment d'une société politique nouvelle, la démocratie. La différence majeure entre ces moments de l'histoire et le début du XXI^e siècle tient à ce qu'aucun courant d'idées n'influe aujourd'hui seul sur les relations science-société.

Nous n'avons plus en commun ni une tradition religieuse unanime, ni ce qui depuis le siècle des Lumières en tenait lieu, une croyance en l'universalité de la loi morale inscrite au cœur de la nature humaine ce qui fait dire, avec un certain pessimisme, au philosophe H. T. Engelhardt Jr, qu'« il faut souvent tolérer pour des raisons morales ce qu'on condamne soi-même pour des raisons morales » (v. n° 27).

C'est que l'essence même du modèle démocratique réside dans la liberté d'opinion, dans le respect des différences.

Or, parce que la pratique de la démocratie implique le développement d'un espace public de discussion critique, avec notamment la science pour sujet, elle ne permet pas a priori de faire prévaloir un choix éthique plutôt qu'un autre. Dégager des valeurs communes, lorsque cela apparaît nécessaire, suppose un patient travail de médiation sociale en vue d'aboutir à un équilibre précaire entre valeurs et intérêts en conflit.

C'est ce long processus qui donne souvent l'apparence que l'éthique se réduit à une éthique procédurale.

Le même constat pourrait être fait à propos du rôle du droit. Véhicule de la raison mais aussi discours de pouvoir, on lui demande aujourd'hui d'être un directeur de conscience et de délimiter un ordre de valeurs.

En témoignent les appels de certains scientifiques à légiférer sur les pratiques qu'ils ont contribué à développer et la peur engendrée par le « vide juridique ». Pourtant, si le modèle de la régulation étatique apparaît défaillant, la multiplicité des codes de déontologie professionnelle, des recommandations, des avis d'instances d'éthique ou d'autorités administratives indépendantes démontre que le droit non imposé est vivant, divers et productif.

La régulation sociale des sciences est plus que jamais nécessaire mais elle ne peut plus s'appuyer ni sur un ordre éthique, ni sur un ordre juridique incontestés. Les rapports science-société ne peuvent désormais résulter que d'un long processus dialectique : c'est à cette alternative qu'entend répondre la bioéthique.

➤ **Bioéthique : une alternative à l'incapacité des valeurs de répondre aux défis posés par les sciences de la vie**

□ **Portée limitée des valeurs sociales communes**

Pour mieux comprendre le contexte historique de la fondation de la bioéthique, il convient de préciser où se situe exactement le point de faiblesse de nos valeurs. A notre sens, il est moins dans l'absence d'un « noyau consensuel » que dans le lien entre ce « noyau » et les questions concrètes posées par le développement des sciences biomédicales.

L'éthique commune ne se réduit pas en effet à une méthode de délibération collective.

Elle a un contenu qu'on a coutume de désigner sous l'expression « droits de l'homme » et qui, depuis plusieurs décennies, devient une réalité du droit positif tant interne qu'international. Or ce contenu de valeurs et de grands principes convient fort bien à la bioéthique et montre ainsi que celle-ci ne justifie pas une éthique particulière.

Si le droit positif international l'a encore peu explicité, il l'a, en revanche, largement été par un ensemble de textes dont la valeur normative se situe entre l'éthique et le droit. Ainsi, s'agissant de l'expérimentation biomédicale chez l'homme, le Code de Nuremberg (1947) et les déclarations de l'Association médicale mondiale (Déclaration d'Helsinki, 1964, révisée) viennent-ils en délimiter les contours au point que nombre de pays se fondent sur celles-ci pour assurer un contrôle des expérimentations sur l'homme.

A partir de ces textes, on peut énoncer un certain nombre de règles internationalement reconnues. La règle selon laquelle aucune investigation ne doit être entreprise sans le consentement libre et éclairé de la personne se fonde sur le principe du respect de la personne humaine dans son autonomie. La règle de confidentialité se fonde sur le principe du respect de la personne dans son intégrité...

S'il existe donc bien une « doctrine » internationale dans laquelle peuvent se reconnaître les sciences de la vie, la difficulté tient à la portée limitée de cette « doctrine ».

En effet, si nous sommes tous d'accord pour dire que le consentement de la personne est une règle essentielle, certains pays présument ce consentement, comme pour le prélèvement d'organes sur une personne décédée, d'autres admettent que pour un malade l'information sur son état de santé ne puisse être totale. Mais allant plus loin que ces différences d'appréciation, force est de constater que si nous sommes tous d'accord pour dire que toute personne humaine mérite le respect, nous ne le sommes plus dès qu'il s'agit de préciser le contenu de ce respect, ni de dire qui mérite d'être appelé une personne.

On sait quelles confrontations d'opinions engendre la question du statut du fœtus et de l'embryon.

En outre, fondé sur les seuls droits de l'homme, le débat bioéthique n'est-il pas un peu trop anthropocentrique, nous conduisant à négliger d'autres aspects essentiels des sciences du vivant ?

Ainsi, lorsque le débat éthique se fait plus concret, la dissension prévaut et elle fait si peur que les textes « fondamentaux » s'en tiennent prudemment à la réaffirmation de « valeurs humanistes » tout en restant évasifs sur les questions les plus embarrassantes.

Autrement dit, on s'accorde sur le contenu de l'éthique à condition de ne pas approfondir ce que ces principes signifient.

□ **Origines de l'alternative bioéthique**

Dans ces conditions, on conçoit que certains aient cherché à sortir de cette impasse.

Les Américains, puisque c'est là que l'histoire de la bioéthique commence au milieu des années 1960, étaient sans doute les mieux à même d'entreprendre cette démarche.

Ils vivaient au cœur de la révolution biomédicale et parallèlement, l'opinion publique américaine apprenait que des expérimentations sur des noirs, des prisonniers, des enfants ou des handicapés faisaient fi des règles minimales établies pour protéger la personne. Il s'ensuivit un large débat public dans le contexte d'une société en pleine évolution sur la question des droits civiques.

Jusqu'alors, l'éthique médicale américaine avait été largement « catholique » (Kelly, Ford). Elle va le rester mais les philosophes et théologiens catholiques (Mc Cormick, Curran, Maguiri, Callahan...) vont s'écarter de la tradition dans laquelle s'inscrivait cette morale pour tenter d'élaborer, avec des chercheurs d'autres disciplines et d'autres horizons idéologiques, des dis-

cours prenant en compte le caractère pluraliste de la société. L'élément à l'origine de cette évolution semble avoir été la prise de position de Paul VI réaffirmant en 1968, et malgré l'avis contraire d'une commission d'experts, l'opposition traditionnelle de l'Église aux méthodes contraceptives. L'enseignement traditionnel sur le contrôle des naissances étant le signe d'un problème beaucoup plus fondamental, celui de la relation de la science et de la théologie, la nécessité imposait de créer des lieux, hors de la dominance de l'Église, pour faciliter la recherche et le dialogue entre biologie, médecine, éthique et théologie. Daniel Callahan devait ainsi fonder le Hastings Center (New York) en 1969 et un autre intellectuel catholique, André Hellegers devenir le premier directeur du Kennedy Institute of ethics, créé en 1971 (Washington DC).

De façon semblable, et pour une part sous l'influence du mouvement initié aux États-Unis, David Roy fondait le Centre de bioéthique de l'Institut de recherches cliniques de Montréal.

L'influence protestante n'a cependant pas été négligeable. C'est du côté protestant que sont venues les premières indications qu'un nouveau champ de réflexion était en germe. Dès 1954, Joseph Fletcher, dans son ouvrage « *Morals and medicine* » inaugure une problématique et établit le patient comme véritable sujet face au médecin.

Si la théologie et la philosophie morale ont une place décisive dans l'acte de naissance de la bioéthique, les juristes sont sans doute en grande partie responsables de son développement. Ils ont dénoncé des scandales comme ceux qui concernaient l'expérimentation chez l'homme et ont activement participé à la clarification des concepts et à la mise au point des principes juridiques et éthiques fondamentaux désormais communément reconnus.

Mais surtout, le désengagement des autorités de l'État de leur fonction législative a donné aux juristes une importance politique considérable à un moment où précisément les juridictions se voyaient confier le soin de définir le contenu des droits de la personne. On rappellera ainsi que ce sont deux décisions de cours suprêmes (*Roe v. Wade* en 1973, aux États-Unis, et *Morgentaler c/ La Reine* en 1988, au Canada) qui ont tranché la question de la légalité de l'avortement sur le continent nord-américain.

Le passage « inéluctable » de l'éthique au droit est ainsi l'œuvre des juristes.

La part que l'Europe a prise au début des années 1980 dans la construction historique de la bioéthique n'aura pas fondamentalement altéré cette vision initiale mais les diverses écoles européennes, accomplissant le cheminement qui avait conduit au débat éthique, ont relancé la discussion sur les questions de principes à un moment où la « bioéthique américaine » était entrée dans une étape plus pragmatique.

Au terme de cette évocation de l'histoire de la bioéthique, nous pouvons mieux en dessiner les contours.

Née d'une crise des valeurs éthiques face aux défis

posés par la nature nouvelle des pouvoirs que l'homme a acquis sur lui-même, la bioéthique emprunte largement à la théologie, à la philosophie morale et au droit pour s'inscrire dans un processus de prise de décision collectif ou individuel.

Il nous faut maintenant nous efforcer d'en analyser le champ d'application et d'en faire surgir les caractères essentiels

■ La contribution de la philosophie à la construction de la démarche bioéthique

> La position paradoxale de la philosophie

Citant le philosophe allemand K-O Apel (*L'éthique à l'âge de la science. L'a priori de la communauté communicationnelle et les fondements de l'éthique*, traduction, Presses Universitaires de Lille, 1987), Anne Fagot-Largeault souligne (*La réflexion philosophique en biomédecine*, in M-H Parizeau (dir.), *Bioéthique, méthodes et fondements*, ACFAS, Cahiers n°66, 1989, p 3) « la situation paradoxale dans laquelle se trouve la philosophie morale à notre époque : sous la pression d'avancées scientifico-technologiques qui engagent le destin planétaire de l'espèce humaine, le besoin d'une éthique universelle se fait sentir avec acuité, mais en même temps « la tâche philosophique de fonder en raison une éthique universelle n'a jamais été aussi ardue, voire désespérée ».

S'interrogeant sur ce constat de l'impossibilité pour la philosophie à remplir sa mission de fonder une éthique universelle, Anne Fagot apporte un début de réponse : « nos sociétés ont admis le pluralisme des opinions éthiques, ... elles en ont fait une valeur, au titre du "respect des différences" et le développement d'un espace public de discussion critique... a creusé un fossé entre ce qui est affaire de vérité objective (les données scientifiques sur lesquelles peut s'établir un consensus rationnel) et ce qui est affaire de préférences individuelles ».

Pourtant, la bioéthique ne conduit pas la philosophie au désespoir. Elle en reconnaît même, d'une certaine manière, la spécificité en lui offrant la possibilité de mettre sa compétence dialectique au service des problèmes soulevés par le développement biomédical. D'un point de vue substantiel, la bioéthique incite aussi la philosophie à s'appliquer à l'analyse de questions concrètes en mobilisant ses théories et ses écoles.

La diversité des approches philosophiques éclaire ainsi la pluralité du monde bioéthique.

> La philosophie comme méthode de discussion formelle

□ La philosophie et sa légitimité

Dans une approche contemporaine de la bioéthique, vécue comme un libre dialogue entre disciplines et systèmes de valeurs, la philosophie aurait une utilité spécifique : son expérience à mener une analyse critique des questions qui lui sont soumises. Ainsi, la philosophie peut-elle légitimement faire valoir « sa compétence dans le maniement et l'articulation des concepts les plus généraux, son expertise dans le domaine de l'expli-

citation des présupposés et des finalités, son entraînement dialectique à formuler les arguments et les objections, son goût pour la réflexion critique poursuivie radicalement » (Gilbert Hottois, *Qu'est-ce que la bioéthique ?* Vrin, Paris, 2004, p 41)

□ **La philosophie et la construction d'une éthique procédurale**

Que faire face à l'échec des idéologies et au refus des croyances imposées ? Le pluralisme éthique et l'individualisme des sociétés occidentales nous laissent-ils un autre choix que celui d'organiser un débat où la diversité des points de vue pourra s'exprimer et faire l'objet d'une analyse critique au grand jour, où ces points de vue et leurs partisans apprendront à coexister parce que dans une démocratie, qui admet pour chacun la liberté de déterminer son mode de vie, il ne peut en être autrement ?

En outre, si « dans une discussion authentiquement pluridisciplinaire et pluraliste,... la philosophie n'est qu'une voie parmi d'autres, une voie non privilégiée... si la compétence du philosophe dans le domaine de l'éthique n'exprime qu'une spécificité dépourvue d'unité... son goût pour la réflexion critique devrait normalement le conduire à occuper une place unique en son genre dans le débat bioéthique,... une fonction plus formelle que substantielle : un rôle de vigilance logique et méthodologique » (Gilbert Hottois, *Qu'est-ce que la bioéthique ?* Vrin, Paris, 2004, p 41).

Ainsi se dessine, se légitime la voie de l'éthique procédurale de la discussion, qui « postule que dans nos sociétés moralement plurielles, la seule manière légitime de construire les normes justes communes est la discussion argumentée et égalitaire entre tous les intéressés aboutissant à des consensus » (Lazare Poamé, *Ethique procédurale de la discussion* in Gilbert Hottois et Jean-Noël Missa, *Nouvelle encyclopédie de bioéthique*, De Boeck Université, Bruxelles, 2001, p 409).

L'éthique procédurale insiste sur la méthode à mettre en œuvre pour définir le contenu de la norme plutôt que sur la norme elle-même. Elle s'inspire de la philosophie pratique de Kant définie dans la formule : « agis uniquement d'après la maxime qui fait que tu peux vouloir en même temps qu'elle devienne une loi universelle ». Cette conception procédurale de l'éthique va connaître, après le second conflit mondial, des développements importants de la part de philosophes aux démarches diverses.

Karl-Otto Apel et Jürgen Habermas mettent l'accent sur une éthique du discours (K-O Appel, *L'éthique de la discussion*, Cerf, Paris, 1994, J. Habermas, *De l'éthique de la discussion*, Cerf, Paris, 1992) qui prône que chaque norme valide doit satisfaire à la condition selon laquelle les conséquences et effets secondaires, qui résultent de son observation universelle dans l'intention de satisfaire les intérêts de chacun, peuvent être acceptées sans contrainte par toutes les personnes concernées.

Chez John Rawls (J.Rawls, *A Theory of Justice*, Cambridge, Harvard University Press,1971), la recherche de la justice procédurale est en corrélation

pleine et entière avec la quête d'une justice substantielle car la justice d'une procédure dépend toujours soit de la justice de son résultat probable, soit de la justice substantielle.

Chez Tristram Engelhardt (H.T Engelhardt, *Bioethics and Secular Humanism, the Search for a Common Morality*, London Philadelphia, SCM Press Trinity Press Inter, 1991), qui lie l'éthique procédurale au respect des principes d'autonomie et de bienfaisance, l'approche procédurale est rendue opératoire par l'intégration de ces deux principes substantiels fondamentaux et conduit à mettre en avant l'idée de « négociation pacifique », y compris entre points de vue religieux divers.

Malgré les problèmes qu'elles soulèvent (l'approche d'Apel et d'Habermas, qui privilégie un procéduralisme à visée universelle semble peu adaptée à apporter des solutions à des situations concrètes tandis que l'approche d'Engelhardt, en insistant sur la pratique de la négociation pacifique, ouvre la voie à des modes de discussion non exclusivement rationnels), la bioéthique procédurale s'avère une méthodologie utile au fonctionnement des comités d'éthique et peut aussi apporter sa contribution pour dégager des solutions, tout au moins des valeurs ou références communes .

➤ **La philosophie et son apport doctrinal**

□ **Le retour à une philosophie appliquée**

L'intérêt de la philosophie pour l'éthique de la médecine remonte au philosophe athénien Aristote (384-322 av. J.C). Pour celui-ci, l'éthique consiste à exercer la sagesse pratique en faisant preuve de discernement dans l'application de principes généraux à des cas concrets. Cette conception a toutefois été écartée pendant de nombreux siècles au profit d'une approche plus théorique (Platon) avant d'être finalement acceptée dans l'Europe du XIII^e siècle.

À partir de la Renaissance, la philosophie se dégage partiellement de l'emprise de la religion et, avec le siècle des Lumières, elle fera prévaloir, y compris dans le domaine médical, la norme rationnelle et professionnelle. C'est aussi le moment où, l'émancipation acquise de la science et de la philosophie sur la religion, les philosophes se tournent vers une éthique plus théorique que pratique. Ils se préoccupent de clarifier les enjeux mis en exergue par les problèmes du monde, de définir notions et concepts et d'établir des règles pour le débat tout en discutant des mérites respectifs des divers systèmes éthiques , ce qui fera dire à Karl Marx que « jusqu'à présent, les philosophes n'ont fait qu'interpréter le monde (alors que) l'important, c'est de le changer » (Karl Marx et Friedrich Engels, « Thèses sur Feuerbach », *L'Idéologie allemande* (Traduction de Renée Cartelle et Gilbert Badia), Paris, Editions sociales, 1968, p. 142).

La bioéthique et le mouvement d'idées qu'elle a entraînée à partir des années 1960 peuvent ainsi être considérés comme un tournant pour la philosophie qui, pour s'intéresser aux questions nées de l'essor de la médecine, a dû se détourner en partie de ses préoccupations

théoriques et renouer avec la préoccupation aristotélienne pour le raisonnement pratique.

□ **Le principisme : une philosophie pour la bioéthique ?**

Le principisme fonde la conception et la pratique de la bioéthique sur quatre principes fondamentaux (l'autonomie, la bienfaisance, la non malfaisance et la justice) et considère que chaque jugement pratique particulier dérive de règles générales elles-mêmes déduites de ces principes. Il est né aux Etats-Unis d'Amérique sous la plume de T.L. Beauchamp et J.F. Childless (*Principles of Biomedical Ethics*, Oxford University Press, New-York, 1979).

Le principe d'autonomie postule que le patient est libre de décider de son propre intérêt et que nul ne peut aller contre sa volonté. Il s'inspire tout aussi bien du principe kantien du respect de la personne que de la défense de la liberté individuelle promue par John Stuart Mill. Ce principe vise à lutter contre le paternalisme médical ; il constitue le fondement de la règle du consentement libre et informé. Toutefois, il est « neutre » dans la mesure où il ne défend aucune conception particulière du bien mais laisse l'individu faire ses propres choix.

Le principe de bienfaisance concerne, lui, la substance du bien et de l'agir éthique. Il recherche, tout comme le paternalisme, une finalité éthique mais pour l'en distinguer, il doit reconnaître le primat du principe d'autonomie. Le bien qui est recherché est, en effet, dans une société pluraliste, non la règle d'or « fais à autrui ce que tu voudrais qu'il te fit » mais « fais à autrui ce qu'il veut qu'on lui fasse ».

Le principe de non malfaisance rejoint le principe d'éthique médicale traditionnelle, qui impose, pour ne pas nuire au patient (« primum non nocere »), de lui apporter les meilleurs soins prescrits par son état. Mais, dans une société plurielle, il permet aussi au médecin de refuser de pratiquer des actes contraires à sa conscience, le patient pouvant alors faire pratiquer cet acte (l'IVG, par exemple) par un autre médecin.

Le principe de justice s'adresse à un problème politique et social : la répartition, tant au niveau local que global, des ressources et moyens affectés à la santé.

Défini à la fin des années 1970 dans le contexte de la société nord-américaine et tenant particulièrement compte de la force des individualismes et des communautés, le principisme a été critiqué pour son idéalisme, essentiellement au regard du principe d'autonomie, qui postule une liberté du patient sans limite des contraintes concrètes qui s'imposent à lui. Toutefois, le principisme a su développer, avec un nombre limité de principes, une doctrine philosophique qui répondait aux changements dans la pratique médicale : le passage d'une éthique médicale traditionnelle et contestée vers l'émergence de la bioéthique.

□ **Les principales autres sources philosophiques**

Les critiques apportées au principisme et l'émergence de la bioéthique en dehors des Etats-Unis ont permis de revitaliser la bioéthique au contact de la diversité des sources philosophiques. Ce faisant, la bioéthique s'est

enrichie de principes nouveaux redécouverts à son profit (principe de dignité, de sacralité de la vie, principe de précaution...) mais aussi des controverses liées au rapprochement avec des écoles philosophiques parfois radicalement opposées. Aussi, les sources philosophiques auxquelles la bioéthique doit son essor sont désormais nombreuses et classiques.

Le courant aristotélien a une influence considérable, notamment en ce qu'il porte attention à la praxis – l'action tournée vers le bien- et au finalisme – la bioéthique fait usage de la notion de prudence-

L'inspiration kantienne est une référence importante tant pour le principe d'autonomie (cf supra) que pour celui de dignité de la personne, qui rejette toute commercialisation du corps humain. La philosophie kantienne apporte aussi sa contribution à travers le concept d'impératif catégorique qui met l'accent sur la portée universelle et inconditionnelle des principes d'éthique.

Le courant utilitariste inspire largement la bioéthique anglo-saxonne. Il part du principe que la moralité d'une action s'apprécie à l'aune de son utilité et défend que la règle consiste à choisir ce qui permet de réaliser le plus d'utilité pour le plus grand nombre. En tenant compte du coût (en moyens mais aussi en comparant risques et avantages). L'utilitarisme offre ainsi la possibilité d'un choix rationnel et quantifiable à partir de calculs empiriquement accessibles. Accordant, par ailleurs, un intérêt au corps sensible, l'utilitarisme se pose avec une certaine acuité la question de la souffrance tant chez l'homme (notamment en fin de vie) que chez l'animal.

D'autres courants, historiquement plus récents, comme les courants d'inspiration féministe, ou, dans la continuité de la philosophie des Lumières, la référence aux Droits de l'homme jouent un rôle important dans l'extension théorique et pratique de la bioéthique.

Développées en opposition au principisme, les éthiques narratives mettent l'accent sur le concret et le particulier. C'est l'éthique du souci de l'autre et elles trouvent des assises notamment dans les travaux des philosophes français Paul Ricoeur et Emmanuel Levinas.

Avec la mondialisation, sont apparues de nouveaux courants qui influent sur la bioéthique.

Alors que le libéral Francis Fukuyama (*La fin de l'homme, les conséquences de la révolution biologique*, Folio Gallimard, Paris, 2002) s'inquiète des conséquences du développement biotechnologique, capable de transformer l'homme à un degré jusqu'alors insoupçonné, sur le système politique, le courant transhumaniste (Rémi Sussan, *Les Utopies post humaines*, éd. Omnisciences, 2005) appelle de ses vœux de nombreuses évolutions technologiques afin de modifier l'humain et la société. D'autres courants critiques (altermondialiste, néomarxiste, les études sur le genre...) insistent pour que l'homme puisse s'inventer une nouvelle vie, de nouveaux lieux, se construire une nouvelle identité (Razmig Keuckeyan, *Hémisphère gauche. Une cartographie des nouvelles pensées critiques*, éd. Zones, 2010)

> **La philosophie au service de la démarche éthique**

□ Démarche déductive (à partir d'une morale commune) ou démarche inductive (vers une morale commune)

L'éthique est la science pratique des mœurs, du bien et du mal auraient dit les classiques. Elle traite de choix et de décisions et des gestes qui en découlent lorsque des valeurs humaines sont soit ignorées, soit menacées. L'éthique s'occupe ainsi des liens entre l'activité humaine et les valeurs humaines véritables.

Notre responsabilité personnelle consiste à répondre pour le mieux à ces questions et l'éthique traite précisément des questions liées à la responsabilité. Ceci dit, comment opère l'éthique dans la résolution des questions posées par les nouvelles avancées biomédicales ?

L'éthique peut agir suivant une procédure déductive : trouver dans les règles générales celle qui s'appliquera avec pertinence à chaque cas d'espèce. La règle du consentement éclairé est un principe fondamental de l'éthique médicale et, pour être valable, le consentement devrait répondre à trois critères : les propos du médecin doivent être parfaitement compris, la liberté de décision du patient doit être totale et on doit être assuré de ne pas lui nuire. Or, il apparaît qu'en réanimation, le plus souvent aucune de ces conditions ne peut être satisfaite.

Faut-il alors être exigeant sur la qualité du consentement individuel, quitte à renoncer à des protocoles de recherches, ou certaines recherches ont-elles une importance assez grande pour justifier qu'on les entreprenne malgré un consentement individuel précaire ou inexistant ?

Les valeurs n'étant pas isolées mais classées suivant leur importance, la solution des conflits de valeurs demande une prise de position quant à la façon de mesurer ces valeurs. Or, cet arbitrage de conflits de valeurs apparaît aujourd'hui de plus en plus malaisé car il n'existe plus de hiérarchie de valeurs qui soit absolue.

Ainsi, l'église catholique, qui insiste sur le caractère sacré de la vie humaine, admet-elle, depuis Pie XII (Jocelyne Saint Arnaud, Trois discours de Pie XII et le débat sur l'euthanasie, Laval théologique et philosophique, 50, 3 octobre 1994), qu'il y a un moment où il faut s'abstenir de soins extraordinaires de réanimation. De plus en plus, c'est au regard d'un contexte donné qu'il faudra juger de l'importance respective des impératifs en présence.

L'éthique a alors souvent recours à une autre méthode, inductive celle-là. Il s'agit, pour progresser dans la recherche de valeurs communes, de faire abstraction des éthiques individuelles ou plutôt de les confronter non dans leurs fondements, mais sur leurs objectifs pour en déterminer les convergences. Peut-être constaterons-nous alors qu'avec des motivations idéologiques différentes nous avons une notion commune relativement cohérente de l'ordre humain à promouvoir.

Telle fut ainsi la démarche suggérée dès 1984 par lady Mary Warnock (Report of the Committee of Inquiry into Human Fertilisation and Embryology - "The Warnock Report", Her Majesty's Stationery Office, London, July 1984) et par Anne Fagot-Largeault (L'homme bioéthique. Pour une déontologie de la recherche sur le vivant, Maloine, Paris, 1985). ■

2 Les modèles animaux et les neurones-miroirs du singe : Intérêt du raffinement dans l'expérience animale

François Clarac

P3M, CNRS, Marseille

Résumé

Ces singes ont toujours été une énigme pour l'homme, tout proche de nous par certains côtés, si différents par d'autres... Le débat est en pleine discussion... Ne vient-on pas de voir publier coup sur coup trois ouvrages qui situent le singe tout à côté de l'humain ? Il paraît sage de dire aujourd'hui que la recherche neuroscientifique utilise le plus souvent des préparations simplifiées comme des invertébrés, des tranches de cerveau, des cultures ou des souris... mais que pour certaines fonctions très élaborées, il paraît bien difficile de ne pas utiliser le primate. Cela suppose d'avoir des animaleries très performantes où à la fois l'animal se trouve dans un habitat particulièrement attractif et où toutes les opérations réalisées se font dans les meilleures conditions. Il faut le plus possible « raffiner » !

Les singes ont fait faire aux neurosciences des progrès tout à fait exceptionnels, que ce soit au niveau de la connaissance des activités des neurones cérébraux ou à celui des relations entre les approches électrophysiologiques et comportementales. Si par le passé on n'a pas pris les précautions nécessaires, aujourd'hui les soins intensifs utilisés ont permis des avancées significatives. La découverte des neurones miroirs en est un des meilleurs exemples ; elle n'a été possible que sur des animaux particulièrement bien traités.

Giacomo Rizzolatti et son groupe ont trouvé des neurones corticaux qui répondaient aussi bien aux propres mouvements de préhension du singe qu'aux mêmes mouvements réalisés par l'expérimentateur qui le faisait devant lui ! Cette école venait de découvrir une classe de neurones pré moteurs que l'on a dénommé « neurones miroirs », neurones qui sont activés en miroir par la propre action de l'animal comme par la même

action reproduite devant lui. Certains d'entre eux, « les neurones miroir audio-visuels » peuvent être déclenchés non seulement par la vue du mouvement, mais aussi par le son que produit cette action.

Des études comparables réalisées en imagerie cérébrale ont confirmé la présence de tels neurones chez l'homme. Durant l'observation de l'action, les aires pré motrices et pariétales sont fortement activées. Le fait même que des zones identiques du cerveau s'activent lorsqu'on réalise une action et lorsqu'on la regarde faire, semble être un mécanisme de base de la communication entre animaux et entre humains. On peut dire que les neurones en miroir sont à la base de « la théorie de l'esprit ».

Chez l'humain, les neurones miroirs nous feraient reproduire mentalement ce que font les autres, et nous permettraient de nous mettre à la place de ceux qui sont avec nous. Les cellules miroirs expliqueraient pourquoi les émotions sont contagieuses. Ces réseaux constitueraient donc l'une des bases neuronales de l'empathie et de la cognition sociale gérant l'établissement de nos relations avec les autres. Dans les cas d'autisme chez les enfants ces neurones seraient déficients, mais ce point est très discuté.

De par sa proximité de l'humain, le singe se positionne en modèle expérimental tout à fait particulier pour mettre au point des protocoles thérapeutiques applicables à l'homme et qu'on n'osera pas tenter directement chez l'humain pour des raisons éthiques. On n'aurait pas expérimenté sur le singe et on n'aurait pas « raffiné », on n'aurait jamais trouvé ce type de neurones qui pourtant a constitué un progrès crucial dans la connaissance du cerveau.

Introduction

L'histoire des sciences nous a montré que l'utilisation d'animaux vivants dans des expériences en biologie ne se développe qu'à partir du XVII^e siècle au moment où des esprits curieux et éclairés veulent connaître non seulement l'anatomie des êtres humains et des animaux mais aussi les voir fonctionner afin de déterminer les grandes lois qui président à la vie. La sensibilité en ces siècles passés n'est pas celle d'aujourd'hui, la dureté du monde, les souffrances sont quotidiennes... qu'est-ce que la vivisection d'une petite bestiole ?...

Le philosophe médecin Georges Canguilhem (1904-1995) a parfaitement montré que cette pratique très

ancienne paraissait à l'époque presque normale. « La vivisection remonte à la nuit des temps, c'est-à-dire à la nuit des instincts et des rêves. Elle exploite dans ses premières et plus frustes tentatives, les effets de gestes dont la préméditation était différente ou même dépourvus de préméditation. Sectionner la tête d'une vipère... c'est imiter une réaction de conservation. La bêche du jardinier, la faux du moissonneur et l'arme du chasseur ont devancé le scalpel du physiologiste. Le couteau du sacrificateur, de l'haruspice étrusque, a fait de même... » (Canguilhem 1977).

Cette quête scientifique a vu des animaux sacrifiés sans aucun respect pour les espèces étudiées. Le début du XIX^e siècle est marqué par l'opposition entre le profes-

seur au Collège de France, François Magendie (1783-1855) qui disséquait sans coup férir de jeunes chiots alors que Charles Bell le grand professeur de physiologie Anglaise (1774-1842) ne supportait pas de faire de vivisection et travaillait sur des animaux moribonds... c'est pourtant le Bordelais qui a été le plus rigoureux dans ses expériences sur les racines spinales et a le mieux démontré la séparation des racines sensorielles et motrices dans la moelle épinière. N'oublions pas cependant que ces travaux ont été sans conteste au service d'une amélioration significative de la médecine avec de nouveaux moyens pour soigner les maladies.

Cette démarche de médecine expérimentale, prônée par Claude Bernard (1813-1878) demeure encore aujourd'hui un principe fondamental de la recherche en biologie. De son temps l'exploration scientifique s'effectuait à l'abri de toute médiatisation et n'avait d'intérêt que pour une caste d'intellectuels qui échangeait leurs points de vue et leurs désaccords au sein des Académies scientifiques. Avec le progrès des connaissances, la médecine, les sciences vétérinaires et la chirurgie ont évolué, proposant des pratiques nouvelles, comme l'anesthésie locale ou générale capables d'endiguer les douleurs. On était loin des premières expériences de Galvani (1737-1798) où les grenouilles vivantes se trouvaient mutilées sans aucune précaution.

La recherche dans le domaine de la biologie, l'expérimentation animale et l'expérimentation chez l'homme à des fins thérapeutiques est aujourd'hui encadrée de façon formelle par une série de lois dont les décrets d'application rassemblent l'ensemble des recommandations nécessaires à la mise en œuvre de bonnes pratiques. Les lois de bioéthiques, promulguées en France en 1994 et révisées de façon régulière en fonction des progrès des connaissances définissent avec précision les modalités de l'exercice de la recherche dans le domaine de la santé, posant les principes généraux concernant le respect du corps humain, l'étude des caractéristiques génétiques des personnes, la protection de l'espèce humaine et celle de l'embryon humain. Depuis la règle et l'affirmation des trois R (remplacer, réduire et raffiner) de Russell et Burch (1959) le traitement des animaux et en particulier des primates non humains a bien changé. On n'expérimente plus sur n'importe quel bête, on n'essaie pas d'expérimenter pour voir !

Nous allons au cours de cet exposé d'abord montrer comment se fait la détermination de l'animal sur lequel on va expérimenter. On choisira suivant la question que l'on pose. On cherchera à comprendre le fonctionnement nerveux suivant des règles beaucoup plus précises adaptées au thème abordé. On décidera à l'avance, suivant le problème que l'on veut résoudre, du type d'animal utilisé.

Nous poursuivrons notre démonstration en décrivant l'apport exceptionnel du singe dans la connaissance du fonctionnement du cerveau avec en particulier la description de ces fameux neurones miroirs, cellules si particulières dans leurs fonctionnements.

Nous montrerons enfin les conséquences de la présence de ces neurones retrouvés chez l'homme, ils sont à l'origine de bien des explications nouvelles sur le psychisme humain.

● Utilisation à bon escient des modèles animaux

Sans justifier à tout prix l'utilisation du singe comme animal expérimental, nous voudrions montrer que son modèle nous paraît trop précieux pour qu'il ne soit utilisé que lorsque cela est indispensable. Cet exceptionnel animal d'expérience ne doit servir que dans des conditions exceptionnelles. Dans la plupart des cas un chercheur a à sa disposition toute une palette expérimentale très variée et très riche. Aujourd'hui un expérimentateur qui répond aux principes éthiques adoptés choisit la préparation la plus adaptée. Il existe une séparation fondamentale suivant le projet expérimental ; soit le but est de comprendre les mécanismes intimes du tissu nerveux et on fait dans ce cas appel à des systèmes simples soit on cherche à comprendre des mécanismes psychiques extrêmement complexes propres à l'homme et dans ce cas le seul modèle possible se trouve être le primate non humain.

> Les modèles simples

Dès le milieu du XIX^e siècle des auteurs remarquaient que les invertébrés possédaient des structures nerveuses de grande taille et aisément accessibles que ce soit chez les vers, les mollusques, les insectes ou chez les crustacés (Clarac Pearlstein 2007). De tels exemples sont aujourd'hui bien connus. On peut en citer deux qui ont mené leurs auteurs jusqu'à la récompense suprême, le prix Nobel. C'est le cas de A.L.Hodgkin (1914-1998) et A. Huxley qui en utilisant un axone géant du manteau du calmar ont montré les mécanismes ioniques capables de conduire l'influx nerveux. En 1952, ils ont publié une série d'articles où ils ont expliqué qu'une différence de potentiel présente de part et d'autre d'un axone suffisait à comprendre la polarisation membranaire au repos. Ils ont ensuite grâce à l'insertion de deux électrodes à l'intérieur de la fibre et par des modifications ioniques internes montré que le potentiel d'action avait pour origine une brusque pénétration d'ions sodium qui dépolarisent la membrane suivie par une sortie d'ions potassium qui la repolarisent avant un retour au repos. Ce brusque phénomène qui ne dure pas plus d'une milliseconde, permet d'expliquer que la conduction nerveuse se fasse avec un minimum de dépense énergétique (Hodgkin et Huxley 1952). Ils obtinrent en 1963 le Prix Nobel pour leur découverte.

De la même façon, Eric Kandel qui avait appris à Paris à l'Institut Marey avec L. Tauc (1926-1999), la préparation du ganglion abdominal de l'Aplysie, un gastéropode opisthobranch, a mis au point une préparation décrite en 1970 avec son équipe. Ils proposent l'étude du phénomène d'habituation et de sensibilisation à partir d'un circuit nerveux simple qui induit la contraction de la branchie à la suite d'un jet d'eau sur le siphon. Le circuit comprend des neurones sensoriels tactiles, des interneurons et des motoneurons.

À côté de la préparation entière où ils définissent la sortie motrice, la contraction branchiale, ils sont capables d'isoler le circuit dans une boîte de Pétri et d'enregistrer les neurones qui le composent, en intracellulaire. L'analyse sera poursuivie pendant plus de trente ans. La

stimulation étant répétée régulièrement, la réponse s'habitue et va même disparaître. Par contre une stimulation générale induit une sensibilisation qui redonne la réponse initiale. Ce réflexe peut être conditionné en associant une stimulation du manteau à celle du siphon afin d'étudier les mécanismes d'adaptation à long terme.

Les travaux ont porté essentiellement sur les mécanismes pré synaptiques du circuit et ont démontré les processus moléculaires sous-jacents. Kandel a ainsi mis en évidence des phénomènes nerveux liés à la mémoire. Il a prouvé que la sérotonine met en jeu un système de seconds messagers tels que l'AMP cyclique qui entraîne une augmentation d'excitabilité et un élargissement du potentiel d'action en réduisant des courants K^+ spécifiques. Ainsi un plus grand flux de calcium entre dans la terminaison pré synaptique et explique la facilitation à court terme.

La facilitation à long terme fait intervenir des éléments du génome en induisant une cascade transcriptionnelle qui commence avec le facteur de transcription CREB-1 (cAMP Response Element Binding protein 1), une protéine de liaison impliquée dans la réponse à l'AMP cyclique présente dans les promoteurs des gènes cibles. Ainsi l'injection de la forme phosphorylée de CREB1 suffit pour déclencher une mémoire à long terme (Kandel 2007). En 2000, Kandel obtient le prix Nobel : en plus de ses travaux sur l'Aplysie, il a confirmé sur des souris transgéniques les effets moléculaires à long terme observés sur le mollusque.

Ainsi les préparations d'invertébrés ont beaucoup apporté dans les années 1960-1980 aux neurosciences en expliquant les principes fondamentaux de fonctionnement neurobiologiques. L'intérêt premier de leur utilisation provient du faible nombre de neurones de leurs systèmes nerveux. On a ainsi l'avantage de pouvoir en identifier certains et on a la possibilité d'étudier des réseaux neuronaux élémentaires avec beaucoup de précision. Les invertébrés, même les plus complexes, ont en général autour d'un million de neurones ce qui est très peu à côté des cent milliards attribués à l'homme.

Cette recherche de simplification a été aussi poursuivie chez les vertébrés mais il a fallu adapter les préparations. L'avantage de ce sous-embanchement vient de son organisation basale à peu près identique dans toutes ses classes. La neurobiologie fondamentale est la même que l'on s'adresse à un poisson ou à un mammifère. C'est ainsi par exemple que S. Grillner (Grillner et al 1996) a choisi d'analyser les mécanismes de la nage chez la lamproie un des vertébrés les plus primitifs. Ses résultats sont applicables à tous les vertébrés inférieurs mais aussi en partie aux mammifères.

On a aussi eu l'idée d'utiliser des tranches de cerveau. C'est en 1965 que Yamamoto et McIlwain mettent au point une tranche de tissu nerveux de mammifères. Il démontrent que même si bien des connections sont lésées il reste assez de liaisons entre les neurones présents pour avoir ainsi isolé un véritable petit réseau du centre choisi. On a par la suite réalisés des préparations de 200 à 400 microns d'épaisseurs d'hippocampe, de cervelet, de thalamus ou de cortex. Ce tissu est maintenu en vie grâce à un liquide de perfusion approprié. L'intérêt de

tels modèles a été confirmé en 1975 lorsque Schwartzkroin et Wester ont, sur des tranches d'hippocampe, retrouvé le phénomène de « potentiation à long terme » primitivement défini par Bliss et Lomo en 1973 sur des lapins entiers. Ce phénomène est aujourd'hui considéré comme la base des processus mnésiques.

Le dernier modèle développé pour mieux connaître les mécanismes cellulaires a été la culture de cellules nerveuses. Ces préparations ont été mise au point sur de jeunes rongeurs grâce à un milieu de culture stable durant plusieurs semaines (Crain, 1976). Des mécanismes complexes ont été par la suite développés qui permettent de suivre très précisément la pousse et la mise en place des connections synaptiques entre les neurones; on voit un réseau s'élaborer et on peut juger de son organisation histo-chimique et électrique.

Tous ces progrès permettaient une analyse extrêmement précise des processus cellulaires et moléculaires des neurones ; une autre révolution allait naître alors avec l'arrivée de la génétique. Les procédés qui permettent d'isoler un gène, de le supprimer ou de le remplacer par un autre ont ouvert des champs nouveaux d'étude qui permettent aujourd'hui d'aller beaucoup plus finement dans les mécanismes cellulaires. Ils deviennent des atouts précieux dans l'explication de nombreuses pathologies. On utilise régulièrement et en premier lieu la souris mais aussi le poisson-zèbre, la drosophile ou le vers *Caenorhabditis elegans*.

> Les primates-non humains, des modèles indispensables

Il est certain que si on veut aborder des questions neurobiologiques qui touchent aux mécanismes psychiques, les préparations évoquées précédemment ne sont absolument pas appropriées. On lit tous les jours des articles présentant de nouvelles découvertes faites, par exemple chez la souris, qui ne peuvent pas être directement transposées à l'homme. Il faut un intermédiaire. Le singe est bien le modèle idéal mais avec ce groupe de primate non humain on arrive aujourd'hui à un paradoxe.

Il est évident qu'on a sous évalué la variété des attitudes et la richesse de la vie sociale des singes!... Ne vient-on pas de voir publier coup sur coup : en 2006 : « Le singe en nous » de Frans de Waal, « La fin de l'exception humaine, de Jean-Marie Schaeffer, 2007, et en 2009 « L'animal est il une personne ? » d'Yves Christen.... plus récemment encore "Homme et animal, la question des frontières", débat dirigé par Valérie Casmos, Frank Cézilli, Pierre Guenancia et Jean-Pierre Sylvestre.

Frans de Waal primatologue qui travaille au Yerkes Center à Atlanta aux Etats-Unis dit que « Nous ne descendons pas du singe, nous sommes des singes ». Son laboratoire donne directement sur des troupes de singes qui vivent en semi-liberté. Il étudie leurs comportements depuis plus de 20 ans. Les observations et analyses de son dernier livre, sont principalement centrées sur les bonobos et les chimpanzés, espèces qui sont les plus proches génétiquement parlant de l'Homo sapiens. L'observation de ces primates en milieu naturel ou en captivité, montre de nombreux comportements que l'on attribue généralement à l'homme. On trouve chez eux

des réactions affectives qui sont les nôtres, des réponses agressives présentes chez nous et même un don de soi, de l'empathie (voir plus loin) qui nous était jusqu'à maintenant réservée. Il est évident que les singes ou tout au moins les plus évolués sont presque de notre famille. Ils sont là sur cette planète avant nous et nous avons divergé il n'y a pas si longtemps de leur branche développementale

Grâce aux travaux réalisés sur le cerveau des singes on a non seulement fait des très grands progrès dans la connaissance de notre propre cerveau mais on a pu s'attaquer à des pathologies qui paraissaient incurables.

Nous prendrons juste un exemple. Il concerne la maladie de Parkinson du médecin, paléontologue et politique anglais, James Parkinson (1755-1824). C'est en 1817 qu'il la décrivait pour la première fois dans « An Essay on the Shaking Palsy », en parlant de paralysie agitante (paralysie tremblante), une affection neurologique que Jean-Baptiste Charcot nommera plus tard du nom de l'anglais. Notre démonstration met en jeu au départ deux laboratoires différents, l'un à Bordeaux et l'autre à Grenoble. A Bordeaux, Bernard Bioulac qui depuis près de vingt ans étudie à la fois l'activité motrice corticale et les centres sous-corticaux impliqués dans la maladie de Parkinson, va mettre au point des singes qui traités avec une substance pharmacologique (singes MPTP) présentent tous les symptômes du parkinsonisme avec bradykinésie, tremblement et une certaine rigidité posturale. La toxine, le MPTP qui détruit la substance noire et ses cellules dopaminergiques avec leurs axones atteignant le striatum, rend le singe parkinsonien. Cherchant à enregistrer ainsi qu'à stimuler ces différentes régions des noyaux gris, le laboratoire s'intéresse au noyau caudé, peut être en souvenir de leur maître Bordelais, Delmas-Marsalet (1898-1977). Y a-t-il eu une erreur de placement, il apparaît qu'une stimulation à haute fréquence fasse cesser toute activité pathologique. Une vérification à l'autopsie démontre que l'électrode avait été placée dans un noyau encore mal connu; le noyau sous-thalamique. Ce travail publié en 1993 ouvrait une voie nouvelle d'étude (Pollak et al 1993). Ce noyau avait été décrit par un médecin aliéniste, mais aussi anatomiste, Jules Bernard Luys (1828-1897). C'est Forel qui lui a donné son nom. En 1927, Pierre Martin attribue l'hémiballisme à la destruction de ce noyau et précise la fonction du noyau, entrevue par Luys comme un élément du contrôle de la motricité. Parallèlement à Grenoble, Alim-Louis Benabid a focalisé ses travaux sur plusieurs pathologies neurologiques et a mis au point une chirurgie stéréotaxique qui permet d'atteindre avec grande précision, des noyaux dans la profondeur du cerveau. Au début de son travail, il étudie le thalamus et le pallidum. Mis au courant des travaux de l'école Bordelaise, il va s'intéresser au noyau sous-thalamique et transférer chez l'homme la technique qui avait été mise en œuvre chez le singe. Dès les premiers essais sur des patients où toute pharmacologie était impuissante, Il a obtenu, par inhibition des structures cérébrales profondes, la disparition des symptômes moteurs (tremblement, akinésie, rigidité) de la maladie (Limousin et al.1995). Cette intervention a une efficacité remarquable et constitue actuellement le

traitement chirurgical le plus efficace contre la maladie de Parkinson. Alim-Louis Benabid a élargi les indications de la stimulation électrique profonde à d'autres pathologies : dystonies, épilepsie rebelle, troubles obsessionnels compulsifs, algies vasculaires, obésité. Aujourd'hui la stimulation cérébrale profonde soulage d'autres troubles moteurs comme les dystonies, les dyskinésies, certaines formes de mouvements anormaux (chorée) et comme certaines pathologies relevant de troubles mentaux comme les TOC. (Trouble Obsessionnel Compulsif). L'importance des résultats obtenus chez le singe va se confirmer maintenant avec la découverte de différents types de neurones dans le cortex cérébral..

● Les neurones du cortex du singe expliquent l'homme

> Les premiers résultats

C'est dans les années 1960 qu'Edward Vaughan Evarts (1926-1985) et son groupe ont enregistré des neurones du cortex moteur sur des singes chroniques, entraînés à déplacer le bras, à fléchir ou étendre son poignet en réponse à un signal lumineux. La réponse est unique et permet de corréler la décharge unitaire au mouvement réalisé. Les très fines électrodes insérées dans le cortex moteur, enregistrent l'activité des plus gros neurones, ceux de la couche 5, au départ du faisceau pyramidal. Ainsi Evarts démontre que la décharge corticale commence environ 100 ms. après le signal lumineux et 60 à 80 ms avant le mouvement qu'il caractérise en enregistrant les muscles impliqués par l'électromyogramme (EMG). Certains neurones accroissent leurs activités avec la force, d'autres avec le maintien de cette force. Ces travaux ont eu un très grand retentissement.

Jusque là on ne connaissait que l'activité globale enregistrée par électroencéphalographie (EEG.) qui donnait une idée trop imprécise du fonctionnement du cerveau.. Les travaux d'analyse cellulaire ont été le point de départ de très nombreux enregistrements dans les zones sensorielles et motrices. On a pu beaucoup mieux comprendre l'intégration sensorielle et la préparation motrice. Dans les années 1990, un très grand progrès a été accompli quand il a été possible grâce à des systèmes multi-électrodes, d'enregistrer plusieurs neurones à la fois et ainsi de comprendre leurs fonctionnements mutuels.

Les travaux actuels dans ce domaine utilisent des techniques sophistiquées et leurs interprétations posent des questions fondamentales sur la façon dont fonctionnent les réseaux de neurones du cortex pour assurer l'expression de comportements adaptés. Au cours de cette dernière décennie, on a acquis l'idée que quelles que soient les activités considérées, le cerveau fonctionne de façon distribuée, c'est-à-dire que bien des réseaux neuroniques agissent en parallèle. Pendant trop longtemps on a cru que le système nerveux fonctionnait de façon linéaire un peu comme des lignes de chemin de fer avec un départ, et une arrivée. On était fier de définir un câblage avec des voies strictes et rigides. On sait aujourd'hui que ces réseaux interviennent en boucle et en parallèle. Le fonctionnement distribué des réseaux de neurones qui siè-

gent dans différentes aires cérébrales pour induire une action psychique donnée, implique la mise en jeu d'autres réseaux qui participent à leur élaboration en sous tendant d'autres fonctions psychiques comme l'attention sélective, la catégorisation ou la mémorisation... Elles font également intervenir des circuits neuroniques qui préparent la mise en place de certains actes moteurs. Une des questions fondamentales qui reste à résoudre est de comprendre comment l'ensemble de ces régions spécialisées et distribuées, coopèrent entre elles pour assurer la réalisation d'un acte cognitif complexe.

W. Singer (1995) est depuis de longues années le leader d'une théorie expliquant que les structures actives du cerveau interagissent suivant la tâche par synchronisation rythmique de leur activité neuronale. Ainsi des assemblées de neurones associées en réseau se lient par moment suivant des connexions réciproques au sein d'une même aire ou entre neurones d'aires voisines. À côté de ces synchronisations localisées et de durée limitée, il existe des synchronisations à distance avec des aires éloignées comme celles qui interviennent dans des fonctions cognitives complexes (Varela et al., 2001).

> La découverte de l'école de Rizzolatti

On savait depuis longtemps qu'il existait une zone du langage décrite par Broca en 1861 au niveau de la base de la 2^e et de la 3^e circonvolution frontale. Elle a été longuement discutée mais elle est maintenant définitivement acceptée. Cette zone est revenue au cœur de l'actualité des neurosciences avec les travaux de l'école de Rizzolatti à Parme qui a découvert en 1996, dans l'aire F5 du cerveau des singes macaques (le correspondant chez les simiens de l'aire de Broca), une classe de neurones pré moteurs bien particuliers. Jusque là on essayait d'associer la décharge du ou des neurones enregistrés avec un mouvement ou une activité réalisée si la réponse était de type motrice ou avec une sensation particulière si l'activité était liée à une sensation. Dans le cas considéré Rizzolatti a trouvé des neurones dont l'activité électrique augmentait non seulement quand le singe exécutait des mouvements de la main en essayant d'attraper un objet ou une cible mais aussi, et là c'était extraordinaire, quand d'autres individus en face de lui (singes ou humains), exécutaient les mêmes mouvements que lui (figure 1).

Ces neurones ont été baptisés « neurones miroir » comme si la vision d'une action était l'image en miroir d'une action réalisée. La poursuite des études sur le sujet a bien confirmé que des neurones possédant des propriétés similaires ont été découverts en 2002 dans un secteur du cortex pariétal postérieur, le mouvement réalisé et le mouvement vu devaient correspondre parfaitement l'un avec l'autre (Gallese et al., 1996).

Si le neurone « parle » lorsque le singe attrape une boulette de viande avec la main, si devant lui l'expérimentateur attrape une même boulette mais avec une pince, la cellule ne « parlera » pas. L'observation d'une action de la main en relation avec un objet n'induit une activation du même réseau neuronal que s'il voit en face de lui exactement la même action. Cette observation entraîne chez celui qui regarde une activation automatique du même mécanisme neuronal déclenché par l'exécution de l'ac-

tion (figure 1). Ce mécanisme est à la base d'une forme directe de compréhension de l'action.

La même équipe a montré que ces neurones miroir F5 sont activés même si la phase finale du mouvement est cachée. Certains d'entre eux « les neurones miroir audiovisuels » peuvent être déclenchés non seulement par l'observation du mouvement, mais aussi par le son qu'elle induit. Enfin une population de neurones miroir, en relation avec l'exécution des activités buccales, semble en rapport étroit avec des objets à saisir, à mordre ou à lécher. Par ailleurs, parmi ces derniers, certains sont actifs durant la réalisation de mimiques faciales communicatives exécutées par l'expérimentateur en face du singe.

> Les neurones miroirs chez l'humain

Par des études comparables réalisées en imagerie, on a confirmé que de tels neurones sont aussi présents chez l'homme. Durant l'observation de l'action, les aires pré motrices et pariétales sont fortement activées. Les aires où se localisent le système miroir se situent dans la zone motrice comme l'avait si bien décrite le neurologue de Montréal Wilder Penfield (1891-1976). Il avait parlé d'un homonculus moteur avec des zones différemment activées selon que les mouvements observés concernent la main, la bouche ou des pieds. Le fait même que des zones identiques du cerveau s'activent lorsqu'on réalise une action et lorsqu'on la regarde faire, semble être un mécanisme de base de la communication entre les humains mais aussi entre animaux et entre humains. Grâce à l'implantation d'électrodes dans le cerveau de 21 patients épileptiques destinées à rechercher les foyers

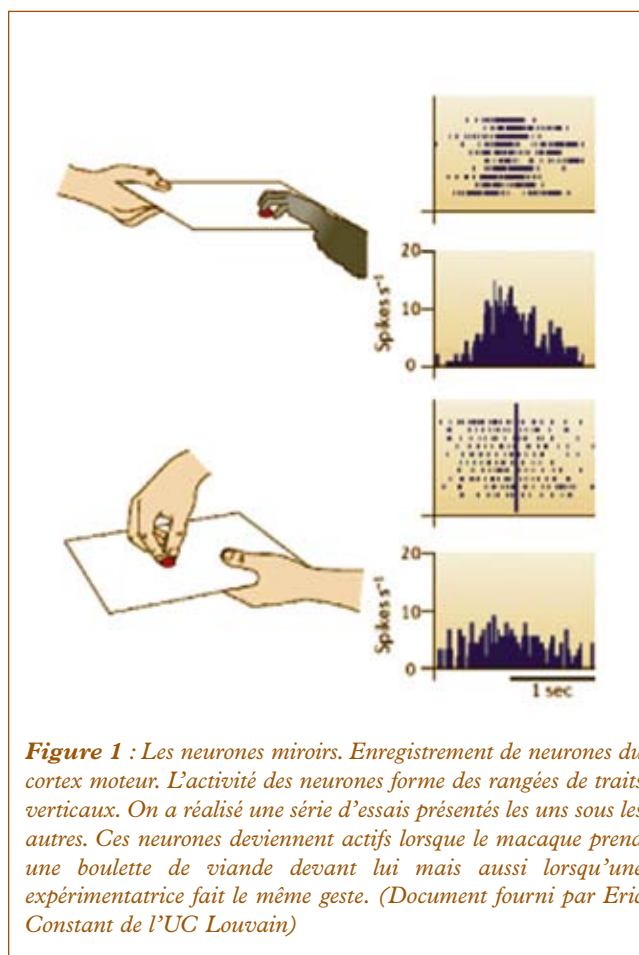


Figure 1 : Les neurones miroirs. Enregistrement de neurones du cortex moteur. L'activité des neurones forme des rangées de traits verticaux. On a réalisé une série d'essais présentés les uns sous les autres. Ces neurones deviennent actifs lorsque le macaque prend une boulette de viande devant lui mais aussi lorsqu'une expérimentatrice fait le même geste. (Document fourni par Eric Constant de l'UC Louvain)

épileptiques, l'équipe de Roy Mukamel a analysé l'activité de 1177 neurones sous diverses conditions : le patient soit observait une personne active, soit le patient exécutait lui-même ces actions. Si les neurones n'ont répondu qu'à une des deux situations, une proportion significative (68 neurones) ont réagi aux deux situations. Pour les chercheurs, cette réponse double confirme la présence de neurones miroirs (Mukamel et al. 2010).

Shirley Fecteau, a montré que les réseaux de neurones miroirs sont présents chez les jeunes enfants au cours du développement du cerveau. Pendant une intervention chirurgicale au cerveau pour soigner une épilepsie chez un enfant de trois ans, elle a observé une activité neuronale dans le cortex sensorimoteur lorsque l'enfant observait une main en train de dessiner. Ces mêmes zones étaient actives lorsque l'enfant faisait elle-même le dessin (Fecteau et al. 2004)

Il apparaît ainsi que le rôle d'un tel système assure une compréhension directe non seulement de l'activité mais aussi de l'émotion des autres sans qu'il soit nécessaire d'imaginer des processus de haut niveau. Le lien entre la perception et l'exécution des actions est pour ainsi dire direct. Deux principaux réseaux corticaux semblent intervenir : le premier est formé du lobe pariétal et du cortex prémoteur, le second réside en profondeur dans l'insula et le cortex antérieur cingulaire. Rizzolatti (2006) résumera ainsi le rôle de tels neurones : « En observant des actions effectuées par un autre, deux classes d'informations peuvent être obtenues. L'une est « ce » que l'acteur fait et l'autre, « pourquoi » il le fait. En voyant par exemple une petite fille saisissant une pomme, nous comprenons qu'elle saisit un objet. Toutefois, il est fréquent que nous comprenions aussi les raisons de ce geste, c'est-à-dire son intention. Nous pouvons décider si elle prend la pomme pour la manger, ou pour la stocker dans un panier. L'hypothèse que les neurones miroirs sont impliqués dans la compréhension de l'intention a été lancée il y a déjà plusieurs années, mais ce n'est que récemment que l'imagerie IRM fonctionnelle l'a confirmé, au moins dans certains cas. ».

● Intérêts chez l'humain de la présence des neurones miroirs :

Cette découverte paraît avoir particulièrement frappé le monde biologique mais surtout a été considérée par les psychologues comme l'explication nerveuse de nombreuses réactions complexes. Le neurologue Vilayanur Ramachandran dans une interview en 2009 a considéré cette découverte comme aussi importante que celle de la double hélice du DNA décrite par Watson et Crick en 1952. Il va même jusqu'à dire que ces neurones, en nous permettant d'apprendre des comportements sociaux complexes, ont sans doute été à la base de la civilisation humaine. Sans spéculer aussi loin, il est évident que ces neurones semblent être le substrat neuronal de très importantes fonctions.

> L'empathie

L'empathie qui est à la base même des neurosciences sociales est une notion difficile à définir. Elle désigne le

mécanisme par lequel un individu ou un animal peut « comprendre » les sentiments et les émotions d'une autre personne mais aussi qui va toucher et impliquer ses états mentaux non-émotionnels comme ses croyances. Le neuropsychiatre Français Jean Decety, installé aujourd'hui à Chicago, étudie les différentes formes d'empathie et en a donné une longue explication dans une revue publiée en anglais en 2004. Il a résumé cet article dans une interview à Gaëtanne Chapelle à Science Humaine (n°150, 2004) : « Je propose deux définitions ; dans la première, l'empathie désigne un sentiment de partage et de compréhension affective qui témoigne des mécanismes intersubjectifs propres à l'espèce humaine. Il s'agit certes de notre capacité à se mettre à la place de l'autre pour ressentir son état subjectif. Une deuxième définition désigne l'empathie en tant qu'émotion particulière, ou attitude qui conduit à des comportements prosociaux, altruistes (une définition proche de la sympathie dans son usage en langue anglaise) »

Decety insiste sur le rôle des neurones miroirs qui assurent une forme biologique à l'empathie, c'est-à-dire à la représentation de l'esprit de l'autre, de son humeur et de ses intentions (Decety et Jackson 2004). On peut ainsi considérer que grâce à de tels « réseaux miroirs » il existe entre deux individus un état neuronal partagé qui obéit alors aux mêmes règles morpho fonctionnelles, l'« autre » en face de moi, devient un « autre moi ». On va donc conclure que sans empathie, il ne peut y avoir de relations sociales (Decety et Michalska 2010).

L'empathie est très étudiée chez l'adulte et l'enfant, principalement grâce aux techniques d'imagerie cérébrale fonctionnelle. Ces recherches démontrent que lors de l'observation d'une situation douloureuse accidentelle, les circuits neuronaux qui sont impliqués dans la douleur physique sont actifs chez l'observateur. Ce circuit neuronal inclut l'insula cortex, le cortex cingulaire antérieur et la substance grise périaqueducule.

De nombreux travaux ont caractérisé l'empathie en utilisant un sentiment très émotionnel comme la douleur. Il paraît évident qu'une des premières réactions vis-à-vis des autres est de ne pas supporter qu'ils souffrent. Hugo Theoret a ainsi montré que des enfants qui voient une vidéo ou un enfant se coince la main dans un coffre de voiture ont des réactions particulièrement fortes démontrant la mise en jeu de système miroirs. Pourtant Nicolas Danziger, de l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière (Danziger et al. 2009), a réalisé des expériences qui montrent que pour avoir de telles sensations il faut un intense travail mental de représentation et d'imagination de « ce que l'autre ressent », qui va bien au-delà d'un simple mimétisme automatique reposant sur les neurones miroirs. Suivant la théorie des neurones miroirs, le cerveau reproduirait l'activité électrique liée à la douleur, et un observateur comprendrait la sensation observée en ravivant des bribes d'expériences douloureuses du passé. En fait, Danziger a montré que des personnes insensibles à la douleur du fait de mutations génétiques, parviennent fort bien à évaluer le degré de souffrance d'autrui à partir de l'expression des visages. Elles le font sans penser à des sensations douloureuses, elles en sont dépourvues.

L'empathie chez l'animal encore en discussion : Frans de Waal le pense vraiment. Selon lui, l'empathie et l'imitation -que l'on constate chez certaines bêtes -montrent une capacité à s'« identifier » à l'autre. De Waal estime donc que l'« identification », la capacité de s'identifier à l'autre, serait première chez l'animal, et qu'elle s'exprimerait au travers de l'empathie et de l'imitation. D'autres nous disent: le « je » et « l'autre » sont une dialectique propre à l'homme. Elle ne se rencontre pas chez l'animal. Le chimpanzé a probablement une certaine conscience de son état, mais pas de son identité durable : il ne peut pas dire « je », en reliant à ce « je » ses états antérieurs et ses états futurs !

L'idée de cette relation inter humaine conduit à un sentiment encore plus noble qu'a décrit dans un de ses livres « Le cœur des autres » Jean-Didier Vincent le neurobiologiste bien connu (Vincent 2003). Il s'appuie sur le tableau de Vélasquez "la Reddition de Breda" pour mettre en exergue un des sentiments uniques à l'homme mais combien modeste et combien précieux, la compassion. En opposant ce tableau plein d'humanité à la férocité du combat entre Espagnols et Hollandais qui vient de s'achever, il démontre que le peintre a voulu dépasser les horreurs de la bataille pour atteindre une des plus belles qualités humaines : « Vélasquez a choisi de montrer le moment où le vainqueur accueille le vaincu et lui évite de s'incliner. Il y a dans le face-à-face des deux guerriers un concentré de ce que j'ai voulu dire sur la tendresse dont les hommes sont capables. Le geste de la main de Spinola sur l'épaule à peine abaissée de Nassau célèbre la victoire éclatante et modeste de la compassion... ». La compassion n'a-t-elle pas aussi comme substrat neuronique, les neurones miroirs qui interviennent dans toutes les relations humaines ? Il faut cependant se demander si en voulant associer ces neurones à la plupart des réactions humaines on n'outrepasse pas leurs principales fonctions.

> L'imitation

Juste après la deuxième guerre mondiale, l'étude du développement de l'enfant a été particulièrement étudiée par deux grands psychologues, Jean Piaget (1896-1980) et René Zazzo (1910-1996). Piaget, en décrivant le développement de l'enfant, insiste sur les possibilités d'imitation. Il démontre son importance dans l'acquisition du langage, des capacités à raisonner et à se représenter le monde. Il va se rendre célèbre en définissant différents « stades de développement ». Au même moment, Zazzo observe la protrusion de la langue de son fils en réponse à la protrusion de sa propre langue. Il analysera régulièrement une telle réaction et publiera plus tard une étude sur 17 enfants de 15 jours réagissant de la même façon.

En 1977 Meltzoff et Moore reprennent et élargissent de tels travaux ; ils observent une augmentation de la fréquence de protrusion de la langue, de clignements des yeux, d'ouvertures de la main, de gonflements des joues, chez le nouveau-né d'une douzaine de jours si on fait régulièrement devant eux ces mouvements qu'ils cherchent à imiter (voir figure 2). On expliquait mal à l'époque de telles réactions chez de si jeunes bébés et on cherchait des explications psychologiques émotionnelles



Figure 2 : Expérience de Meltzoff et Moore (1977). Un nouveau-né d'une dizaine de jours est capable de refaire les mouvements de protrusion de la langue, de clignement des yeux ou d'ouverture de la main que la personne qui le tient dans les bras réalise devant lui. (Science 198 4312 (1977) 75-78)

très élaborées. La découverte des neurones empathiques résout l'énigme de la capacité des nouveaux-nés. Cette imitation est l'apprentissage même.

> Rôle dans la communication

On sait par les paléontologues et les préhistoriens que l'homme a pour origine un animal herbivore quadrupède qui vivait dans les arbres; on sait aussi que lorsqu'il a envahi la savane, ses membres antérieurs ont quitté le sol et la main ainsi libérée des contraintes posturales a acquis une liberté de mouvements exceptionnelle. Parallèlement la région buccale s'est trouvée complexifiée ; elle n'était pas utilisée que pour se nourrir mais l'arrière gorge voyait se développer le système moteur du langage. Cette mise en place s'est faite peu à peu. M. Corballis (1999), dans une revue, émet l'hypothèse que ce développement du langage qui correspond à la zone où l'on a trouvé ces neurones miroirs, nommée F5 chez le singe, est celle décrite par Broca chez l'homme.

Corballis pense que nos cerveaux ont développé, au cours de l'évolution, un mécanisme fonctionnel fondamental qui nous assure une certaine vie sociale. Des études chez les grands singes démontrent qu'ils « parlent avec les mains » et que le geste précède la parole. On peut ainsi imaginer nos ancêtres communiquer avec les mains et ainsi se faire comprendre de leurs congénères. La mise en place des neurones miroirs, là où va apparaître le langage, confirme leur rôle essentiel dans la communication. On comprend mieux pourquoi les latins parlent avec les mains !

> Intervention dans l'autisme

L'autisme est une redoutable pathologie de l'enfant qui touche essentiellement les relations sociales avec un manque d'intérêt évident pour tout ce qui entoure le malade et une absence ou une très sévère limitation du langage. On comprend que les neurones miroirs qui semblent intervenir dans toutes ces situations, aient été

considérés comme le substrat privilégié de cette pathologie. Hugo Théoret a ainsi tenté de montrer leurs interventions en réalisant l'expérience suivante : les témoins regardent une vidéo d'une main qui bouge un doigt. On leur demande alors d'observer le geste sans rien faire d'autre. Puis dans un deuxième temps, ils doivent imiter le geste. Dans les deux situations on mesure le potentiel évoqué visuel. Les mesures montrent la même activation cérébrale dans la zone des neurones miroirs que les sujets observent l'action ou la réalisent. Si la même expérience est faite avec des autistes, leurs potentiels évoqués ont une beaucoup plus faible amplitude. Il apparaîtrait donc que dans cette pathologie la connaissance des activités des « autres » est très déficitaire. Pourtant les résultats sont contradictoires (Fecteau et al. 2006).

Tout récemment, en 2010, I. Dinstein par une étude en imagerie démontre que les autistes présentent des images cérébrales identiques qu'ils observent ou qu'ils exécutent eux-mêmes les mouvements. Pour cette équipe le système miroir n'est pas touché chez les autistes. La question qui reste posée se situe au niveau des sujets utilisés pour cette expérience. Il semble que pour faire passer des patients dans cet appareil il faut qu'ils soient très légèrement atteints car on voit mal un sujet largement touché accepter de rester tout le long de l'expérience à l'intérieur d'un tel appareillage.

Conclusion

Notre réflexion sur les modèles animaux et les neurones miroirs induisent plusieurs conclusions essentielles :

La mise en évidence des neurones miroirs a été une découverte neurobiologique majeure de ces dernières années. Elle permet déjà d'expliquer bien des phénomènes psychologiques qui paraissaient difficilement interprétables jusqu'alors. Certes, dans bien des domaines, on en est encore aux spéculations, mais le fait que leur présence soit ainsi discutée démontre l'intérêt qu'on leur porte.

Que l'on ait trouvé ces neurones miroirs chez le singe signifie que nous avons la preuve que le singe communique avec nous pendant l'expérimentation. Il y a donc une relation particulièrement étroite entre l'animal et l'expérimentateur. Les personnes qui ainsi manipulent ces primates non humain doivent savoir que leurs gestes ou leurs attitudes ont un sens précis pour les animaux dont ils s'occupent.

Mais plus important encore, je suis sûr qu'il y a quelques années on n'aurait pas trouvé ce type de neurones. Les expériences n'avaient pas atteint le niveau de raffinement utilisé aujourd'hui. Ce n'a été possible que parce que les primates sont maintenant dans des conditions expérimentales optimales qu'ils expriment l'ensemble de leurs réactions. Deux choses ont transformé les animaleries : la façon de traiter ces animaux en dehors des protocoles expérimentaux ; leurs milieux de vie, la cage qu'ils occupent, les lieux où ils peuvent s'occuper ou jouer ou se dépenser. Il leur faut beaucoup d'activités ludiques quand ils n'expérimentent pas. Depuis les travaux de Mark Rozenzweig et de son école (Rozenzweig et al. 1998) nous savons qu'un milieu enrichi permet un déve-

loppement bien supérieur du cerveau.

Les progrès en chirurgie ont aussi permis une bien meilleure précision dans la connaissance cérébrale. Lorsqu'on veut capter l'activité du cortex, on n'utilise plus ces plots indécents et douloureux que le singe supportait avec grande difficulté. On a des métaux nouveaux pour fixer les plots sur le crâne. On utilise des systèmes de fixation particulièrement légers et adaptés ; les chaises de contention restent fixes mais beaucoup plus fonctionnelles

Le chercheur doit absolument se souvenir de la chance que l'expérimentation animale lui procure mais aussi des devoirs qu'il a à se servir de tels animaux. Comme a dit encore Ganguilhem (1977) à propos de la relation de la recherche et des animaux utilisés : « Il est en tout cas bien connu des biologistes que le choix de l'animal d'étude commande souvent la découverte. » Protégeons au mieux nos animaux ! ■

Bibliographie :

- Bliss, TVP, Lomo, T, (1973). « Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. » *J. Physiol.*, 232, 331-356.
- Camos, V., Cézilli, F., Guenancia, P., Sylvestre, J.P., (2009). *Homme et animal, la question des frontières* ; Quae, edit. Paris.
- Ganguilhem, G., (1977). *La formation du concept de réflexe aux XVIIe et XVIIIe siècles*. Vrin Paris, 2eme édition.
- Christen, Y., (2009). *L'animal est-il une personne ?* Flammarion. Paris.
- Clarac Pearlstein 2007). « Invertebrate preparations and their contribution to neurobiology in the second half of the 20th century » *Br. Res. Rev.*, 54, 113-161.
- Clarac, F., Ternaux, JP., (2008). *Encyclopédie historique des neurosciences*. DeBoeck université. Bruxelles.
- Corballis, M. C. (1999). Phylogeny from apes to humans. In M. C. Corballis and S. E. G. Lea (Eds.), *The descent of mind: Psychological perspectives on hominid evolution* (pp. 40-70). Oxford: Oxford University Press.
- Crain, SM (1976). *Neurophysiological studies in tissue culture*: Raven Press
- Danziger N, Failletot I, Peyron R., (2009) Can we share a pain we never felt ? Neural correlates of empathy in patients with congenital insensitivity to pain , in *Neuron*, vol. 61, n° 2, pp. 203-212
- Decety, J., Jackson, P.L. (2004). The functional architecture of human empathy. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 3, 71-100.
- Decety, J., Michalska KJ.(2010)., Neurodevelopmental changes in the circuits underlying empathy and sympathy from childhood to adulthood.*Dev Sci.*,13(6):886-99.
- Dinstein, I., Thomas, C., Humprheys, K., Minshew, N., Berhmann, M., Heeger, D.J. (2010) Normal movement selectivity in Autism. *Neuron* 66, 461-469
- Evarts, E.V. (1965). « Relation of discharge frequency to conduction velocity in pyramidal neurons. » *J. Neurophysiol.*, 28, 216-228.
- Fecteau S, Lepage JF, Théoret H. (2006) Autism spectrum disorder: seeing is not understanding. *Curr Biol.*;16(4):R131-3
- Fecteau S, Carmant L, Tremblay C, Robert M, Bouthiller A, Théoret H. (2004). A motor resonance mechanism in children ? Evidence from sub-dural electrodes in a 36 month-old child. *Neuroreport* 15(17): 2625-7.

- Gallese V., Fadiga L., Fogassi L., Rizzolatti G (1996). Action recognition in the premotor cortex. *Brain*, 119 (1996), 593-609.
- Grillner, S., (1996). Les circuits nerveux de la locomotion. *Pour la Science*, n° 221, 58 - 64.
- Hodgkin, A., Huxley, A.F., (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol*; 117, 500-544.
- Kandel ER, (2007). *A La recherche de la mémoire*. éditeur Odile Jacob. Paris.
- Limousin P., Pollak P., Benazzouz A., Hoffmann D., Le Bas J.F., Brousseau E., Perret J.E., Benabid A.L. (1995). Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation *Lancet* 345, 91-95
- Meltzoff, A.N., Moore, M.K. (1977). "Imitation of Facial and Manual Gestures by Human Neonates", *Science*, 198, 75-78.
- Mukamel R, Ekstrom AD, Kaplan J, Iacoboni M, Fried I. (2010) Single-Neuron Responses in Humans during Execution and Observation of Actions. *Curr Biol*. in press.
- Pollak P; Benabid A L; Gross C; Gao D M; Laurent A; Benazzouz A; Hoffmann D; Gentil M; Perret (1993). Effects of the stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson disease. *Revue neurologique*. 149(3):175-6.
- Rizzolatti, G. (2006). " Les systèmes de neurones miroirs" discours à l' Académie des Sciences,
- Rizzolatti, G. Sinigaglia, C., (2008). *Les Neurones miroirs*. Odile Jacob. Paris.
- Rosenzweig, Leiman, Breedlove, (1998). *Psychobiologie*. Traduction Française de Nicole Bonnaventure et Bruno Wild.
- Roubertoux, P., (2004). Existe-t-il des gènes du comportement ? Paris, éd., Odile Jacob.
- Russell, W.M.S. and Burch, R.L., (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. Methuen, London.
- Schaeffer, J.M., (2007). *La fin de l'exception humaine*. Gallimard, collection NRF Essais. Paris.
- Schwartzkroin, P. & Wester, K. (1975) Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the in vitro hippocampal slice. *Brain Research* 89:107-19.
- Singer, W. (1995). Development and plasticity of cortical processing architectures. *Science* 270: 758-764
- Varela, F.J., Lachaux, J.-P., Rodriguez, E. and Martinerie, J. (2001), 'The brainweb: Phase synchronization and large-scale integration', *Nature Reviews Neuroscience*, 2, pp. 229-39.
- Vincent, J.-D., (2003). *Le cœur des autres, Biologie de la compassion*. Plon; Paris.
- de Waal, F. (2006). *Le singe en nous*. Traduction de Marie-France de Palomé Fayard, Paris.
- Yamamoto C, McIlwain H. Potentials evoked in vitro in preparations from the mammalian brain. *Nature*. 1966 Jun 4; 210(5040):1055-1056

3

Mise en application de la règle des 3 R dans les études de sécurité du médicament : partage d'expérience vécue dans le domaine de l'hébergement.

Patrick Hardy
AFSTAL

Résumé

Cette présentation, basée uniquement sur des expériences vécues, traite de la mise en œuvre de la composante "raffinement" dans le cadre d'une politique globale de bien-être animal en R&D.

Elle se positionne au niveau des études de sécurité du médicament, généralement considérées comme un contexte particulièrement contraignant, et sur le thème de l'optimisation des modalités d'hébergement, de soins, d'alimentation et de conditions de mise en œuvre de certaines techniques.

Les synergies avec la qualité des données et des études ainsi que d'autres éléments prioritaires (tels que la sécurité et les conditions de travail et l'harmonisation des pratiques) sont évoqués.

Outre des exemples concrets de mise en œuvre et de difficultés ou contraintes rencontrées, les pré-requis au succès de ce type de projet, les résultats et bénéfices obtenus sont commentés, en comparaison avec les objectifs et les motivations initiaux.

Cette présentation, illustrée de nombreux exemples vécus, a concerné la mise en place du raffinement dans le cadre du bien-être animal global en R&D dans l'industrie pharmaceutique (recherche santé humaine sur modèles animaux et recherche en santé animale : expérimentation dans l'espèce cible).

Elle posait les questions de *pourquoi* et *comment* raffiner les pratiques d'expérimentation animale.

Essentiellement, les fruits de l'expérience présentés ici concernent les études de sécurité du médicament, et concernent l'optimisation des modalités d'hébergement, d'alimentation et de raffinement (enrichissement) en études de toxicologie, sur un grand nombre d'espèces.

Pourquoi raffiner les conditions de vie des animaux en études de sécurité ?

Premièrement, ceci va apporter un bénéfice direct, qui va se refléter sur leur santé. En second lieu, ceci apporte des garanties quant à la réalisation des études dans des conditions d'acceptabilité meilleures par la société, et par le personnel de l'entreprise.

À ce titre, les programmes de bien-être animal sont partie prenante de la politique générale de sûreté des sites dans les établissements de toxicologie dans l'industrie pharmaceutique.

C'est aussi un gage et une aide à la bonne communication à l'intérieur même de l'entreprise, avec une meilleure acceptation par les personnels et une fidélisation des équipes de recherche, si les études sont faites dans les meilleures conditions possibles pour les animaux.

Le programme de bien-être animal doit être fait en synergie avec la qualité des données et la pertinence des études *in vivo*. Il doit aussi être en synergie avec les accréditations AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) et BPL.

En pratique, le raffinement et l'optimisation du bien être animal vont permettre une détection plus rapide de l'inconfort et donc des observations cliniques plus précoces et plus fiables.

En effet, l'amélioration du bien-être animal va avoir les conséquences suivantes :

- > expression du comportement maximisé (pas d'inhibition),
- > diminution (voire annulation) de la crainte et de l'anxiété,
- > amélioration des conditions d'hébergement (confort),
- > optimisation de l'alimentation et de l'abreuvement,
- > diminution (disparition) des maladies et des blessures intercurrentes.

L'étude systématique et scientifique de la mise en place des pratiques concourant au bien-être animal peut aboutir pour des grands groupes pharmaceutiques ayant plusieurs sites, à une harmonisation des pratiques. Par exemple, ceci concerne les hébergements en groupe (en fonction des espèces : une taille de groupe, par sexe, avec une taille d'unité d'hébergement est choisie). De même, un régime alimentaire est choisi par espèce pour tout le groupe, ainsi que des méthodes et techniques de préhension/contention. Les points limites sont aussi déterminés/examinés sur des bases communes.

La mise en place d'un programme commun de bien-être animal implique des modifications importantes des habitudes des personnels. L'être humain est d'une manière générale réfractaire aux changements, surtout quand il s'agit de pratiques anciennes ayant fait leurs preuves dans l'esprit des gens. Il s'agit alors de soigner la communication, de faire collaborer et d'impliquer les intéressés, et de faire un programme crédible et rationnel.

Ceci va aboutir par la suite à une charte applicable à tout le groupe, comme il en existe chez Sanofi-Aventis et Merial. Ceci va se faire par le choix d'un référentiel a minima comme par exemple l'ETS 123.

La mise en place et la définition des éléments de la charte va se faire grâce au partage d'informations inter et intra entreprises. Il ne faut pas non plus négliger l'apport des fournisseurs de matériel ad hoc.

La démarche à adopter au sein de l'entreprise est typiquement celle d'une démarche de gestion de projet. Les critères doivent être déterminés et testés grâce à des discussions et des échanges avec les chercheurs et les techniciens. Un prototype doit ensuite être mis en place pour faire une étude pilote, puis la rédaction finale peut avoir lieu.

Le bénéfice pour les animaux du programme de bien-être et de ses éléments doit être démontré. Il faut bien sûr éviter l'écueil de l'anthropomorphisme, et il faut démontrer que les changements liés à l'amélioration du bien-être n'ont pas d'interférence négative avec les recherches en cours.

Par la suite, des exemples d'amélioration du bien-être concernant plusieurs secteurs ont été passés en revue.

Hébergement : l'amélioration validée des conditions d'hébergement a permis la détection d'informations sub-cliniques. Par exemple, un institut a mis au point un « nest-grading » index qui permettait de déterminer les conditions optimales de bien-être des animaux, bien avant toute manifestation clinique.

Les modifications de l'hébergement vont cependant de pair avec des contraintes à gérer comme par exemple au niveau de la laverie, et aussi en ce qui concerne les contaminants potentiels apportés par les matériaux utilisés pour l'enrichissement de l'hébergement.

Un autre exemple est la mise en place de mangeoires dissociées de la cage qui permettent de faciliter les pesées quotidiennes de nourriture, et donc la quantification de la prise alimentaire.

Pour les primates (macaques), les modifications d'hébergement ont été importantes. Elles consistent bien sûr en des volières hébergeant des groupes, ce qui permet des comportements sociaux. Dans l'exemple fourni, on pouvait voir des balcons qui permettaient aux singes de voir très tôt qui venait dans le couloir et donc d'être moins surpris. La séparation des locaux d'expérimentation, alliée à ces dispositions, a permis des relations apaisées et plus harmonieuses avec les soignants et les expérimentateurs. La relation homme animal a donc aussi été changée pour le mieux, et la contention des animaux rendue beaucoup plus facile.

L'enrichissement alimentaire est aussi très important chez le primate.

On peut donc dire que globalement, même si ce type de programme suscite des appréhensions (comme par exemple la contention d'un macaque en volière par rapport à une cage à double cloison), et même si c'est extrêmement coûteux, les bénéfices de la mise en place d'un programme raisonné et validé de bien-être animal sont très importants.

Les inconvénients chez les singes sont le fait de devoir faire plus de soins vétérinaires liés aux bagarres, et parfois à des pathologies non liées à l'étude.

Chez le chien, les contacts avec l'Homme sont primordiaux. On utilise des hébergements enrichis par l'utilisation des trois dimensions avec des plateformes et des plans inclinés. L'hébergement en groupe présente la contrainte de devoir effectuer des séparations après administration de produit à tester, et pour une prise de nourriture sans compétition. Par la suite, le retour en groupe peut se faire. Dans le cas du chien, la mise en place d'un programme de bien-être animal avec enrichissement implique donc des coûts importants et une perte de capacité par rapport au système traditionnel. Par ailleurs, l'utilisation de la télémétrie permet de faire de meilleures observations en groupe (utilisation de vestes et émetteurs).

Dans le développement de médicaments vétérinaires, l'expérimentation animale peut se faire dans l'espèce cible elle-même.

Par exemple, dans le cas du furet, on a constaté que les interactions homme-animal étaient aussi importantes que pour les chiens.

Dans le cas du chat, la socialisation n'est importante que pour permettre à l'homme de bien l'expérimenter. Le chat n'a, par lui-même, et en dehors de ce contexte, aucun besoin de contact avec l'Homme, contrairement au chien. L'enrichissement pour les chats se fait aussi en 3D. Les aspects sanitaires en communauté sont assez complexes à gérer, le chat étant sujet à de nombreuses pathologies virales contagieuses (il faut alors décider entre vaccination et SPF strict).

Dans le cas des volailles (poule), l'enrichissement va consister en lumière rouge et jouets en raphia qui vont lui éviter des coups de becs : elle va piquer le raphia. Un exemple d'enrichissement avec perchoirs a aussi été montré en 3D en isolateur A3.

Pour les ovins, la notion de vie en groupe social est très importante.

Chez les rongeurs, on peut apporter des matériels permettant de faire des nids comme des boîtes en carton : l'environnement devient modelable.

Un autre point important, quelle que soit l'espèce, est que l'éleveur d'origine doit être un partenaire qui va contribuer à la socialisation des animaux dès l'élevage. Les firmes pharmaceutiques préparent des cahiers des charges qui doivent être respectés par les éleveurs pour obtenir des animaux bien conditionnées et socialisés. Par exemple, il y a de très bons éleveurs de macaques à l'île Maurice, qui sont dans cette logique de partenariat.

En conclusion, le bien-être animal est donc une fin en soi, du fait qu'il permet une meilleure maîtrise du système d'essai au sens des BPL.

Les indicateurs de performance du bien-être animal sont le fait d'avoir des données de meilleure qualité sans interférence avec l'étude, et d'améliorer la crédibilité et l'image de l'entreprise. ■

4 Le raffinement dans les expérimentations

Virginie Dangles-Marie

Centre de recherche, Institut Curie et Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques. Université Paris Descartes, Paris.

Résumé

Le chercheur faisant appel à l'expérimentation animale a une obligation morale de tenir compte que ses études utilisent des êtres vivants et sensibles, capables d'éprouver de la souffrance. Aussi se doit-il de veiller à l'application de la règle des 3 R : Remplacer, Réduire, Raffiner.

Le Raffinement consiste à optimiser l'expérimentation dans le but de réduire, supprimer ou soulager l'inconfort, la douleur, la détresse ou l'angoisse subie par les animaux. L'application du Raffinement cherchera notamment à améliorer les conditions de transport, d'élevage et d'hébergement, à établir des points

limites, à privilégier des procédures non invasives, à recourir à l'anesthésie/analgésie si le protocole est douloureux, et à utiliser les procédures d'euthanasie appropriées.

A l'aide de quelques exemples, nous illustrerons ces différents points afin de montrer qu'il existe des moyens pour une mise en application au quotidien du Raffinement. Cette démarche de la responsabilité du chercheur, a pour but de respecter l'Animal, la Réglementation, la Société. Enfin, cette optimisation éthique concourt bien évidemment à la qualité des résultats scientifiques produits.

Afin de lutter contre douleur, stress et inconfort, il faut tout d'abord être capable d'identifier ces états. Il est donc indispensable de savoir reconnaître le normal de l'anormal, et les manifestations de ces modifications dépendent de l'espèce. Une bonne connaissance zootechnique de l'espèce utilisée est donc primordiale, ce qui souligne le rôle irremplaçable des zootechniciens, qui ont des contacts quotidiens avec les animaux.

Des grilles d'évaluation de la douleur et de l'inconfort chez les animaux de laboratoire existent, comme celles du CCPA (Conseil Canadien pour la Protection des Animaux) et se révèlent d'une grande aide. Les critères retenus concernent généralement l'apparence physique, les signes cliniques, les modifications de comportement aux stimuli externes, les variations de poids et / ou de prise alimentaire, et la réponse comportementale à des stimuli extérieurs. Ces grilles permettent de relever les signes de douleur et de l'inconfort (cf *tableau 1*)

Un des éléments essentiels de progrès dans le domaine du raffinement, est la mise en place a priori de points limites (« humane endpoints », H.E.). Ce point limite est défini comme le moment où la souffrance et/ou la détresse d'un animal d'expérimentation doit être arrêtée, minimisée ou diminuée à l'aide de mesures telles que l'euthanasie ou par l'arrêt du processus qui le fait souffrir, ou par un traitement visant à le soulager. Il s'agit donc d'un indicateur le plus précoce chez un animal d'expérimentation d'une souffrance et/ou détresse sévère ou d'une mort proche. Ces points vont permettre, dès leur définition, de connaître les conditions d'arrêt de

Tableau 1

Signes de la douleur et de l'inconfort (variables selon l'espèce)

Perte de poids

Hypothermie

Apparence physique

Fonte musculaire (épine dorsale)

Déshydratation

Paupières fermées

Voussure du dos

Pelage souillé, Poils hérissés

Incontinence

Changements respiratoires

Abdomen creusé ou distendu

Mouvements des vibrisses

Comportement

Comportement craintif, agressif

Grincement, morsure, auto-mutilation

Course soudaine

Vocalisation

l'expérience, et le cas échéant de mise en place de traitement de la douleur. De plus, depuis la mise en place des points limites, la mort n'est plus un critère de fin d'expérience, mais doit être anticipée.

Les conclusions du congrès de l'ICLAS (International Council of Lab Animal Science) de 2004, très importantes à cet égard, ont été publiées dans Science en 2006 (Demers et al. 2006, Science, 312; p700). Il faut noter que la publication dans cette revue reconnue au niveau international de haut niveau scientifique, montre clairement une volonté de sensibiliser l'ensemble de la communauté scientifique et permet de renforcer la légitimité scientifique de l'éthique en expérimentation animale et donc son application par tous les expérimentateurs ayant recours à l'expérimentation animale.

Cet article souligne l'importance :

- > du raffinement dans la production des données scientifiques,
- > d'éviter autant que faire se peut la mort ou la douleur sévère,
- > d'utiliser des indicateurs précoces (sans perte de résultats scientifiques),
- > de mettre en place des études pilotes pour déterminer les points limites,
- > de rappeler la responsabilité du chercheur dans la surveillance de l'atteinte des points limites.

De nombreux travaux ont été publiés sur la mise en place de points limites dans le cadre de différentes thématiques scientifiques (tableau 2).

Ces référentiels sont une aide précieuse et indispensable à l'application des H.E. mais se doivent d'être employés avec raison, en fonction des contextes. Un dialogue avec les chercheurs « utilisateurs » est indispensable. Par exemple, d'après le référentiel 'Refining procédures for the administration of substances' (Lab Animals 2001;35:1-35), un volume maximal de 1,25 µL pourrait être injecté en intramusculaire à une souris de 25 g. Des

études pilotes réalisées avec des équipes travaillant en thérapie génique montre qu'un volume de 30 µL peut être injecté en un seul point sans induire ni douleur, ni trouble de la locomotion, ni lésions histologiques.

Lors de la gestion de la douleur, les interventions douloureuses sont bien évidemment prises en compte mais les états douloureux chroniques ne doivent pas non plus être oubliés. La gestion de la douleur nécessite un choix rationnel du meilleur analgésique/anesthésique dans le contexte expérimental, afin ne pas oublier les effets secondaires des molécules. Dans ce contexte, il est à noter l'accès facilité des établissements d'expérimentation animale aux médicaments grâce à l'Arrêté du 21 mai 2003 relatif à la délivrance et à l'utilisation de médicaments employés par les établissements disposant d'un agrément pour pratiquer l'expérimentation animale. De même, la buprénorphine jusqu'à récemment uniquement disponible sous forme de stupéfiants (démarche d'obtention lourde qui nécessitait une autorisation spéciale de l'AFSSAPS) est maintenant une spécialité vétérinaire, considérée comme substance psychotrope de liste I. Par ailleurs, ces spécialités vétérinaires étant dorénavant disponibles sur le marché, la cascade du médicament prévoit qu'elles doivent être utilisées prioritairement à la spécialité humaine.

Des études bibliographiques ont permis de constater un recours plus fréquent aux analgésiques lors de chirurgies invasives chez les Rongeurs depuis 2000, soulignant une prise de conscience de l'importance de cet usage (Laboratory Animals, 2009 43 : 149-154). Cependant, l'utilisation d'analgésie reste toujours moindre chez les Rongeurs que dans les plus grandes espèces animales (Laboratory Animals, 2009 43 : 232-238), suggérant qu'il faut poursuivre l'effort de sensibilisation des utilisateurs, en insistant sur la différence entre anesthésie et analgésie.

La mise en place de H.E. suppose que la mort naturelle en fin de protocole est le plus souvent évitée. Ainsi, les

Tableau 2

Points limites dans le cadre de différentes thématiques scientifiques	
Essais réglementaires	ILAR J. 2002;43 Suppl:S31-8 Humane endpoints for laboratory animals used in regulatory testing
Toxicité aiguë	ILAR J. 2000;41(2):114-23 Humane endpoints and acute toxicity testing.
Essais de vaccination	IBiologicals 2010;38(6):684-95 Application of the Three Rs to challenge assays used in vaccine testing: Tenth report of the BVA/AFW/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement.
Oncologie	Br. J. Cancer 2010;102(11):1555-77 Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research
Recherche biomédicale	J. Appl. Anim. Welf. Sci. 1999;2(4):359-62 The International Conference on the use of humane endpoints in animal experiments for biomedical research
Etat de choc	Shock 2004;21(1):17-25 Humane endpoints in shock research.

courbes de survie sont établies à partir d'animaux euthanasiés à un stade moribond mais avant mort naturelle. Un intérêt scientifique découle également de cette pratique : les échantillons biologiques alors prélevés n'ont pas souffert de lésions post-mortem : une extraction d'ARN de qualité ou encore des marquages immunohistochimiques corrects sont alors possibles. Ainsi, éthique (Refine mais aussi Reduce ici en optimisant les données scientifiques obtenues à partir d'un nombre donné d'animaux) et qualité scientifique sont fortement reliées.

Lors du choix de la méthode d'euthanasie, une connaissance de l'espèce est là-encore primordiale. Le guide du CCPA est un exemple de référentiels décrivant les techniques possibles en fonction de l'espèce concernée. Les critères généraux d'une mort humanitaire sont à considérer (tableau 3).

Il est clair que la prise en considération du bien être animal est en perpétuelle évolution du fait des évolutions des méthodes et techniques de recherche et devient partie intégrante des sciences de l'animal de laboratoire. Comme toute activité scientifique, il est donc important de connaître l'Etat de l'Art en éthique expérimentale. Une veille permettra de mettre en évidence que certains paradigmes ne sont pas toujours figés. Ainsi, il était communément admis que l'identification par ablation des phalanges de souris était éthiquement inacceptable. Une étude récente (Laboratory Animals 2010; 44: 7-13) a permis de montrer que d'un point de vue morphologique, physiologique et de bien-être, le marquage aux doigts dans des conditions précises (âge de l'ablation, nombre de doigts) pouvait être une méthode acceptable pour le marquage des nouveau-nés.

En conclusion, le raffinement est un moyen et non une finalité pour l'obtention de résultats expérimentaux de qualité. Cette approche de Raffinement par l'impact sur les résultats scientifiques obtenus est à intégrer dans les Bonnes Pratiques de Laboratoire. Une démarche active, nécessitant parfois une analyse Coût/Bénéfice, et une analyse a posteriori de validation des méthodes de raffinement, doit impliquer l'équipe zootechnique et le chercheur, avec le support du Comité Ethique. ■

Tableau 3

Critères de choix de la méthode d'euthanasie
1- Sans signe de panique, de douleur ou de détresse
2- Perte de connaissance dans les plus brefs délais
3- sûre et reproductible
4- La sécurité des personnels doit être assurée
5- Minimum d'effets physiologiques et psychologiques produits sur l'animal
6- Conforme aux exigences et aux buts de l'étude
7- Minimum d'effets émotifs produits sur l'observateur et sur le personnel qui effectue l'euthanasie
8- Impact minimum sur le milieu ou sur l'écologie
9- Equipement : simple, peu coûteux et requiert relativement peu d'entretien
10- Lieu : éloigné et séparé des locaux d'hébergement des animaux

5 Douleur, bien-être et raffinement en expérimentation animale. Quels rapports ?

*Jacques Gabriel Servièrè
INRA - AgroParisTech*

Résumé

Associer sous un même titre douleur, bien-être et raffinement peut paraître antinomique, particulièrement dans le contexte contemporain des interrogations à l'origine éthiques transposées aux manières les plus équilibrées d'amélioration de nos pratiques en expérimentation animale. Nous inscrivant dans la perspective d'application du principe de « Remplacement », c'est-à-dire du recours à des méthodes alternatives à l'utilisation d'animaux, du principe de « Réduction », c'est-à-dire de baisse des effectifs d'animaux

utilisés, il importe également d'appliquer le troisième principe, souvent traduit par « Raffinement » des procédures et gestes en expérimentation.

Il sera donc question ici de présenter le contexte d'amont qui préside au souci de faire en sorte que les conséquences les plus manifestement négatives pour les animaux utilisés en expérimentation soient, sinon totalement supprimées, du moins largement atténuées.

Au-delà du principe éthique, de portée générale, dont le souci fondateur relève de la responsabilité morale, il n'est sans doute pas inutile de rappeler quelques définitions sur lesquelles reposent les textes législatifs princeps qui caractérisent les animaux.

Les textes officiels français (Code Rural, article L 214-1), tout comme ceux de la Commission Européenne, définissent les animaux en tant qu'êtres sensibles. Cette propriété est évidemment indépendante du type d'utilisation des animaux, que ce soit en expérimentation (Directive 86/609/EC et 10/64/EC) ou en élevage (Directive 98/58/EC).

D'origine aristotélicienne, le concept de sensibilité désigne avant tout la capacité à ressentir, à faire l'expérience d'une sensation. Pour l'essentiel, sensations et perceptions sont déclenchées par des modifications de l'environnement ou des changements d'état du « milieu intérieur » de l'organisme qui subit et ressent de tels changements.

Il n'est pas inutile de noter que l'équivalent anglais du mot sensibilité, officiellement adopté par les législateurs européens est « sentience ». Si la racine étymologique est commune, l'usage contemporain en éthique animale est plus large qu'en français puisqu'il recouvre la capacité à ressentir douleur ou plaisir, peur, anxiété ou ennui et implique une forme de conscience, ou d'alerte (« awareness »), sans aucun doute différente de ce que le concept implique chez l'humain.

En ce qui concerne l'utilisation des animaux dans les sciences biologiques et médicales, la consultation, même superficielle, des sondages d'opinion consacrés à l'acceptation de cette pratique en recherche permet de repérer

les arguments majeurs spontanément invoqués. C'est avant tout l'existence des phénomènes douloureux qui conditionne l'acceptabilité de cette pratique et constitue l'élément déclencheur des préoccupations éthiques. C'est bien l'idée communément partagée que les animaux sont sensibles à la douleur qui fonde les préoccupations morales spontanées du public.

Au-delà de l'universalité des réactions de protection ou de fuite déclenchées par tout stimulus nocif à l'intégrité des tissus, la diversité anatomique des circuits neuronaux impliqués dans l'analyse de la sensation douloureuse, interroge sur les caractéristiques particulières des douleurs potentiellement éprouvées par une espèce donnée. La prise en compte de la perspective phylogénétique peut aider à pondérer les signes comportementaux ou physiologiques de douleur selon l'espèce concernée en sorte de pouvoir les évaluer en se dégageant du modèle prégnant de la douleur humaine.

L'approche phylogénétique peut aider à approfondir l'interrogation sur la manière de « Raffiner » les pratiques et les conditions de détention des animaux, aussi bien en ce qui concerne l'expérimentation (règle des 3 R) que la détention en animalerie ou en élevage (principe des « cinq libertés » parmi lesquelles figure « l'absence de douleur, lésion ou maladie »). Il importe de souligner que la notion de raffinement en expérimentation ne s'applique pas seulement aux pratiques pendant l'expérimentation stricto sensu, elle concerne également les conditions d'environnement dans lequel les animaux sont maintenus avant et éventuellement après la phase expérimentale. En ce sens, l'expertise collective menée par l'INRA sur « la douleur des animaux d'élevage » rejoint et étend la recommanda-

tion de « Raffiner » qui, dans le but de prendre en compte le « bien-être » des animaux, pourrait être interprété comme principe destiné à « Soulager » les diverses formes de douleur. La règle des 3 R qui a fondé et guide encore la démarche éthique en expérimentation, peut être élargie et transposée par la formule « Supprimer, Substituer, Soulager » qui prend en compte la nécessité de mise en conditions optimales selon les caractéristiques de sensibilité propres à chaque espèce.

Les relations entre « raffinement » et douleur peuvent être éclairées par :

- > un exposé préalable des définitions validées et partagées des termes douleur, souffrance, stress ou de tout autre élément de vocabulaire se rapportant au champ lexical de la douleur,
- > la présentation des grands principes mécanistiques impliqués dans l'émergence de la sensation douloureuse et des émotions associées.

La présentation sera complétée par des exemples ponctuels de facteurs capables de moduler la sensibilité douloureuse ou son expression ; ceci doit permettre d'ouvrir sur l'idée que le contrôle de tels facteurs peut effectivement aider à raffiner certaines pratiques et ainsi à soulager les composantes émotionnelles les plus négatives associées à la douleur.

Les définitions

Nociception

Il faut tout d'abord distinguer entre douleur et nociception. Nociception a été créée au début du XX^e siècle à partir du latin *nocere* (nuire) et de réception ; ce terme caractérise la capacité de détecter spécifiquement des stimuli nociceptifs ayant en commun de menacer l'intégrité des tissus ou du corps et d'activer un ensemble d'organes sensoriels, les nocicepteurs. La nociception est considérée comme un système d'alarme qui protège l'organisme en déclenchant des réponses réflexes (somatiques et végétatives) et comportementales dont la finalité est d'en supprimer la cause afin d'en limiter les conséquences négatives. Cette modalité sensorielle élémentaire est présente dans tout le règne animal.

Douleur

En ce qui concerne la douleur, la définition de référence est celle proposée pour l'homme par l'IASP (Association Internationale pour l'Etude de la Douleur) : « la douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire, réelle ou potentielle ou décrite en termes évoquant une telle lésion ». Cette définition qui fait état de douleurs sans stimulus d'origine externe indique l'existence de douleurs d'origine centrale, c'est-à-dire littéralement construites par le cerveau, rend compte des variations de l'intensité ressentie sous l'effet modulateur des états émotionnels. Toutefois, il est manifeste que cette formulation ne peut s'appliquer directement aux animaux qui ne peuvent décrire verbalement leur vécu sensoriel, d'où une formulation plus adaptée : « expérience sensorielle et émotionnelle aversive, représentée par la "conscience" (awareness) que l'animal a de la rupture ou de la mena-

ce de rupture de l'intégrité de ses tissus » (Molony & Kent, 1997).

Afin de préciser les caractéristiques des réponses à la sensation douloureuse, il est précisé que chez les animaux vertébrés l'expérience sensorielle douloureuse déclenche :

- > des réactions motrices de protection (retrait d'un membre),
- > des réponses neuro-végétatives (accélération du rythme cardiaque, augmentation de pression artérielle, vasoconstriction périphérique, modification transitoire du rythme respiratoire...),
- > des réponses d'évitement apprises (aversion durable vis-à-vis d'un congénère, évitement d'un prédateur ou d'un lieu associé à l'expérience aversive, typologie comportementale modifiée : animal craintif, diminution de l'exploration d'un lieu nouveau...).

Comme on le voit, la définition de la douleur implique d'une part une expérience émotionnelle qui se superpose à l'expérience sensorielle élémentaire que constitue la nociception et, d'autre part, fait appel à la notion de « conscience ».

L'utilisation du mot « émotion » met l'accent sur le fait que la perception douloureuse s'accompagne nécessairement d'une tonalité aversive qui l'inscrit dans la catégorie des émotions dites « primordiales » (comme la peur, la faim, la soif, le besoin de sommeil ...), c'est-à-dire d'émotions déclenchées lorsqu'il y a perturbation profonde des grands équilibres vitaux. Quant à la référence au mot conscience, elle a pour but d'insister sur le fait que la douleur constitue une alerte, mais présente également l'intérêt d'insister sur le fait qu'une attention renouvelée à l'intégrité corporelle constitue une forme de « conscience » qui, sous l'impulsion des sciences cognitives, est considérée comme un élément clé de compréhension des capacités mentales de toute espèce.

Dans la conception cognitiviste, les émotions sont définies comme des réactions affectives complexes qui engagent à la fois le corps et le fonctionnement cérébral. Ces réactions incluent un état subjectif (colère, peur, anxiété, dépression, compassion, amour...), une impulsion à agir (fuir ou attaquer) que cela soit exprimé ouvertement ou non, et des modifications corporelles multiples (augmentation du rythme cardiaque, de la pression sanguine, modification du tonus musculaire...). Certains de ces changements préparent des actions d'adaptations durables, d'autres changements (postures, gestes, expressions faciales, émissions sonores...) transmettent aux congénères des signaux destinés à montrer ce qui est ressenti ou l'intention de l'action à venir.

L'émotion est déclenchée à partir d'une évaluation de la signification individuelle de ce qui se produit dans une situation rencontrée ; ce schéma apparaît vérifié chez les mammifères, en particulier les primates. Chez ces espèces, la genèse des émotions implique l'activation de structures du système nerveux central dont certaines, phylogénétiquement récentes, sont capables de faire émerger une représentation des états du corps (cartographies fonctionnelles). Par comparaison, chez les inframammaliens, les réactions de protection déclenchées par

des situations aversives sont souvent très stéréotypées. Cette constatation incite à proposer l'hypothèse que chez ces espèces, les schémas de réponses motrices sont pré-programmés et n'impliquent pas nécessairement la participation de centres nerveux supérieurs (i.e. cortex télencéphalique), classiquement considérés comme supports nécessaires aux représentations plus ou moins conscientes de l'état du corps.

Souffrance

Le terme souffrance est fréquemment employé comme synonyme de douleur avec les sens ajoutés de chagrin, affliction, désorientation, peur, anxiété, détresse et dépression qui relèvent du domaine psychologique. La définition officielle de l'IASP, est essentiellement conçue pour la clinique humaine, elle énonce que la souffrance est un « état émotionnel de détresse associé aux événements qui menacent l'intégrité biologique ou psychologique de l'individu ».

Indépendamment de cette définition, conçue par des médecins et neurologues pour les humains, certains philosophes ont tenté de distinguer douleur et souffrance chez l'homme. Partant de la constatation qu'un état de souffrance accompagne souvent une douleur sévère et durable qui, par son caractère envahissant, atteint l'image du corps et, par là même, l'intégrité psychique, mais qu'alternativement un état de souffrance peut tout aussi bien intervenir en l'absence de douleur d'origine physique, il a été souligné que douleur et souffrance sont phénoménologiquement distincts. Dès lors, au-delà des facilités de langage, il semble inadéquat d'utiliser le terme souffrance pour les animaux, hormis peut être avec certains grands primates dans des situations impliquant la rupture de liens sociaux.

Quelques mécanismes d'émergence de la douleur :

Nous venons de voir que la nociception est considérée comme un système d'alarme qui protège l'organisme en déclenchant des réponses réflexes (somatiques et végétatives) voire des éléments de réponses comportementales dont la finalité est de supprimer la cause pour en limiter les conséquences négatives.

Les nocicepteurs sont des récepteurs constitués d'une fibre nerveuse fine, dépourvue de gaine isolante de myéline, non différenciée à son extrémité. Ils sont présents en densités variables selon le type de tissu innervé. Certains tissus, constitutifs d'organes pleins comme le cerveau ou le foie, en sont dépourvus. Les nocicepteurs sont les récepteurs préférentiellement sensibles aux stimuli nuisibles, et nombre de nocicepteurs dits polymodaux répondent indifféremment à plusieurs types de stimuli qu'ils soient mécaniques, thermiques, chimiques. Les nocicepteurs envoient leurs messages directement à la moelle épinière (pour le corps) ou aux relais des nerfs crâniens (pour la tête) en se rassemblant au sein de nerfs sensitifs.

Dès le relais médullaire, l'organisation des voies rend possible la reconnaissance des informations sur la base d'une architecture nerveuse spatialement ordonnée. Cette organisation constitue la base de la représentation du corps et le substrat du repérage spatial des stimula-

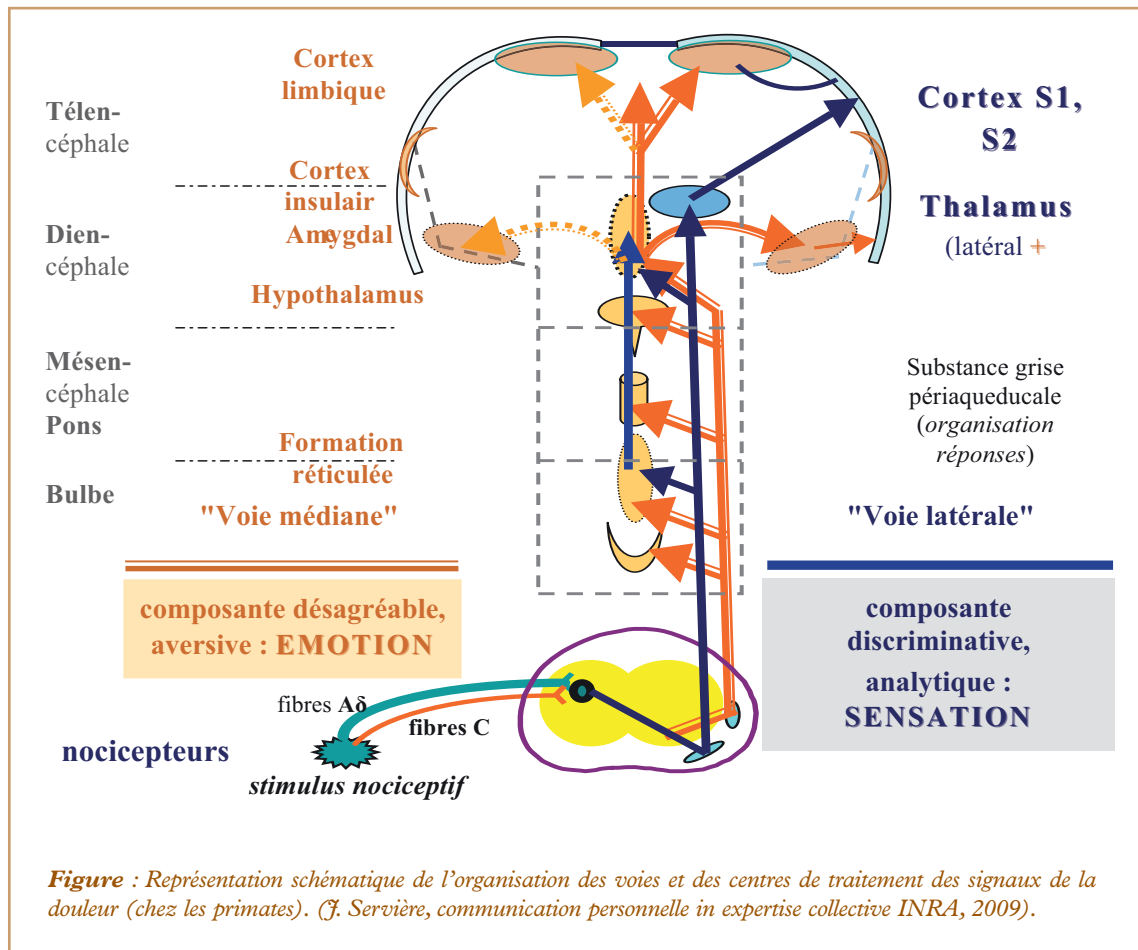
tions nociceptives portées sur le corps ou issues des viscères (composante analytique de la sensation).

À leur entrée dans la moelle, les messages nociceptifs sont orientés simultanément dans deux directions, vers des motoneurones médullaires responsables des activités réflexes et vers les centres nerveux supérieurs. Les messages sensoriels nociceptifs (et thermiques) empruntent des voies ascendantes particulières dans la moelle épinière (faisceaux de fibres nerveuses assemblées en voies anatomiques distinctes ou voies antéro-latérales). Les techniques d'imagerie fonctionnelle (résonance magnétique nucléaire et tomographie par émission de positons) ont permis de montrer chez l'homme que les cortex cingulaire et insulaire sont tout particulièrement activés. Ces structures appartiennent au système limbique, dont le rôle est primordial dans la genèse des émotions. Dans une moindre mesure, les cortex somesthésiques primaire et secondaire sont également activés par les stimulations nociceptives. C'est donc un ensemble de zones cérébrales, un véritable réseau, qui élabore la perception de la douleur et non un « centre » unique de la douleur (*voir figure*).

Le système de réponse à la douleur permet l'analyse des informations nociceptives et le déclenchement des réactions d'échappement et de protection. Il se distingue des autres systèmes sensoriels (vision, audition, toucher...) en ce sens qu'il recrute nécessairement des structures impliquées dans la gestion de manifestations dépassant le cadre de l'analyse sensorielle. Les réseaux de la douleur sont à l'interface du domaine de la physiologie et de la psychologie car ils peuvent aussi bien, mobiliser des réponses végétatives simples (rythme cardiaque, taux de sécrétion d'adrénaline...), déclencher des réponses motrices de protection simples (réflexes d'échappement), qu'orienter des stratégies comportementales plus complexes (postures, stratégies de repli, isolement social), celles-ci étant associées à des vécus émotionnels parfois complexes.

Ainsi, les perceptions douloureuses diffèrent des autres modalités sensorielles en ce qu'elles portent un élément impératif de réaction qui permet de les considérer comme appartenant à la catégorie des émotions primordiales (Denton, 2005, 2008), c'est-à-dire des émotions déclenchées lorsqu'il y a risque vital ou remise en cause d'un équilibre homéostatique (soif, faim, besoin de sommeil...).

Après un premier relais au niveau de la moelle épinière, les signaux nerveux sont distribués en parallèle aux centres supérieurs selon deux grandes caractéristiques fonctionnelles (2 types de « voies ») qui acheminent des composantes différentes de la douleur. Les composantes sensorielles d'alerte et de discrimination : les caractéristiques de la stimulation (position sur le corps, intensité, durée, répétition...) sont véhiculées dans la moelle épinière par les fibres nerveuses de la « voie latérale » rapide qui font un seul relais dans le thalamus ventro-postéro latéral et atteignent les cortex somesthésiques sensitifs S1 & S2. La composante « désagréable » de la sensation est acheminée par la « voie médiane » lente qui distribue ses fibres à un ensemble de centres nerveux étagés selon l'axe postéro-antérieur du cerveau.



Quelques exemples de modulation de la douleur

Les données expérimentales fournies par les neurosciences et par l'approche comportementale ont progressivement été intégrées dans un cadre global qui a pris en compte le registre des émotions, c'est cet ensemble conceptuel que les neurosciences cognitives s'efforcent en partie de formaliser. Dans ce paragraphe nous présentons brièvement quelques exemples mettant en évidence les effets de situations impliquant la gestion d'émotions, lesquelles retentissent sur les seuils de réponse à certaines stimulations nociceptives.

Émotions négatives : l'expérience sensorielle qui associe inévitablement des émotions à tonalité désagréable pour l'homme ou aversive pour les espèces animales, émerge dans des conditions d'apparition fort diverses qui confèrent une dimension particulière (contextuelle) s'ajoutant à cette tonalité négative. Ainsi, les situations génératrices de stress physiologique et psychologique peuvent-elles moduler la perception douloureuse, en commençant même dès les composantes élémentaires de la sensation comme le seuil de réponse à une stimulation nociceptive.

Un effet analgésiant peut être induit par un stress aigu de contention chez le rat qu'il soit mâle ou femelle ; à l'inverse, une hyperalgie sera déclenchée par un stress chronique de contention, mais seulement chez le rat mâle (Gamaro G. D. et al, 1998) ; enfin un effet analgésiant sera induit par un stress chronique s'il est aléatoirement modifié (Pinto-Ribeiro et al., 2004). Si de tels résultats

peuvent paraître contradictoires, en fait la question de fond soulevée consiste plus à déterminer, d'une part si ces données signent véritablement l'existence, parfois controversée, d'un mécanisme d'analgésie induite par le stress et dans quelles conditions ? D'autre part, ces données renvoient au rôle de l'anticipation d'une stimulation vis-à-vis du seuil nociceptif, posant ainsi le rôle de l'attention, dirigée ou non, et du contexte dans lequel une stimulation nociceptive peut être portée.

Émotions positives versus émotions négatives

La littérature rapporte qu'un stress chronique entraîne fréquemment une indifférence à la récompense (anhédonie), celle-ci se manifestant chez le rat par l'absence d'anticipation de la récompense au saccharose (Von Frijtag et al, 2000, 2001 ; Van der Harst, 2005). L'anhédonie peut être supprimée par un transfert en cage enrichie répétitivement couplé à l'annonce (signal sonore) de ce transfert (Kamal et al., 2010). Cette expérience a comparé des rats initialement stressés par une défaite sociale et ensuite introduits en cage enrichie, soit après application directe du renforcement, soit après que ce renforcement ait été accompagné de l'annonce du changement de cage. Seuls les rats « avertis » (i.e. seconde situation) ont bénéficié d'un effet marqué d'atténuation du stress.

D'autres facteurs peuvent également interférer avec la sensation ou avec l'expression des manifestations comportementales indicatives de douleur. Ainsi, il a été démontré chez la souris (Langford et al., 2006) que la

réponse à des stimulations nociceptives thermiques est modulée par le contexte social. Le seuil de réponse change si l'animal est testé en présence d'un congénère habituel, l'expression du comportement de douleur est accrue exclusivement par la vision du congénère familier ce qui ne se manifeste pas en présence d'une souris inconnue. Ce qui a été interprété par les auteurs comme signe d'une forme élémentaire « d'empathie » mais questionné par d'autres auteurs (Miller G., 2006). Il n'en reste pas moins admis que ces formes élémentaires de modulation des réponses à la nociception, qu'elles soient décrites comme de la contagion affective ou d'empathie, dépendent bien des composantes émotionnelles mises en œuvre dans l'évaluation de la situation contextuelle dans laquelle le stimulus nociceptif est appliqué (Singer et al., 2004).

Ce bref panorama de données expérimentales sur la douleur ouvre des perspectives "bien-être" qui peuvent être déclinées en pratiques destinées à améliorer, ou encore raffiner, nos pratiques expérimentales. Au-delà des gestes, ce sont les conditions de vie des animaux (environnement en animalerie, organisation des groupes...) qui peuvent réduire et contrôler le stress social dont dépendent les réponses aux stimulations nociceptives, de même que moduler les manifestations de plasticité neuronale dans les zones du système nerveux impliquées dans la mémorisation des conditions environnementales et dans la gestion des émotions.

Ainsi, le Raffinement, apparaît certainement superposable à la notion d'amélioration. Il se caractérise par l'ensemble des gestes et des conditions de maintien d'un animal qui vont assurer que l'expérimentateur sera à la fois respectueux des règles éthiques et lui permettront de traiter les animaux au mieux des contraintes inhérentes à l'expérimentation en fonction des connaissances du moment où l'expérimentation est entreprise. ■

Eléments de bibliographie :

- Servière J., Serrie A. (2009). Chapitre 2, La douleur : définitions, concepts, mécanismes chez l'homme et les animaux d'élevage. In Rapport d'expertise collective "Douleurs animales : les identifier, les comprendre, les limiter chez les animaux d'élevage".
http://www.inra.fr/l_institut/expertise/expertises_realisees/douleurs_animales_rapport_d_expertise
- Denton D. 2005. Les émotions primordiales et l'éveil de la conscience. Coll. Nouvelle Biblio. Scientifique, Flammarion, Paris, 363pp.
- Denton, D.A. et al. (2008). The role of primordial emotions in the evolutionary origin of consciousness. *Conscious Cognition*. 18, 500-514.
- Gamaro G. D. et al, (1998). The Effects of Acute and Repeated Restraint Stress on the Nociceptive Response in Rats *Physiology & Behaviour*, 63(4): 693-697.
- Kamal A. et al. (2010). Announced reward counteracts the effects of chronic social stress on anticipatory behavior and hippocampal synaptic plasticity in rats. *Exp Brain Res* 201:641-651
- Langford DJ et al., (2006). Social Modulation of Pain as Evidence for Empathy in Mice. *Science*, 312 (5782): 1967-1970.
- Miller G. (2006). Signs of Empathy Seen in Mice. *Science*, 312 (5782): 1860-1861.
- Pinto-Ribeiro F. et al (2004). Chronic unpredictable stress inhibits nociception in male rats. *Neuroscience Letters*, 359 (1-2): 73-76.
- Singer T. et al., (2004). Empathy for Pain Involves the Affective but not Sensory Components of Pain. *Science*, 303 (5661): 1157-1162.
- Von Frijtag JC et al (2000) Defeat followed by individual housing results in long-term impaired reward- and cognition related behaviours in rats. *Behav Brain Res* 117:137-146
- Von Frijtag JC. et al. (2001). Chronic imipramine treatment partially reverses the long-term changes of hippocampal synaptic plasticity in socially stressed rats. *Neurosci Lett* 309:153-156.

6

La démarche éthique de l'expérimentateur

Joseph-Paul Beaufays

*FUNDP: Université de Namur. Faculté des Sciences.
Département « Sciences, Philosophies, Sociétés ».
Unité « Ethique et épistémologie du vivant »*

Résumé

La société contemporaine exige des chercheurs qu'ils relèvent non seulement les défis de l'innovation et de l'excellence, de la compétitivité et des retombées économiques de leurs travaux, mais également qu'ils prennent en compte la question du bien-être animal et des enjeux bioéthiques liés à l'utilisation des animaux dans la Recherche.

La démarche éthique de l'expérimentateur s'inscrit aujourd'hui dans une perspective interdisciplinaire, liée à l'émergence simultanée de nouveaux paradigmes scientifiques, épistémologiques, bioéthiques ou juridiques.

Pour la mise au point de nouvelles expérimentations, les chercheurs prennent en considération et intègrent à leur questionnement scientifique classique le statut d'être sensible de l'animal, avec les responsabilités qui en découlent, l'explosion de technologies nouvelles pour l'étude du vivant, ou encore le

développement croissant des méthodes alternatives à l'expérimentation animale.

Les fondements conceptuels d'une démarche éthique rationnelle reposent sur l'évaluation stratégique des protocoles à l'aide des principes généraux de scientificité, de bienfaisance et de responsabilité du chercheur vis-à-vis de l'animal, ainsi que sur les principes plus spécifiques de proportionnalité, de proximité phylogénétique avec l'être humain, ou encore des 3 R de Russell et Burch.

L'analyse éthique des protocoles se traduit également au laboratoire par la mise en œuvre de mesures concrètes de réduction de la souffrance animale à l'aide des techniques d'analgésie et d'anesthésie, ou par l'identification de points limites dans les essais expérimentaux in vivo.

1. Introduction

Autrefois ravalé au rang de « chose », l'animal est considéré aujourd'hui comme un « être sensible » susceptible de souffrir. Aussi, ne cessant de se forger une place grandissante dans la sphère de l'expérimentation animale, la réflexion éthique y est-elle désormais incontournable et a-t-elle été le ferment de mesures législatives et réglementaires visant à limiter la souffrance animale lors des expériences de laboratoire. Elle est aussi à l'origine d'un changement progressif des mentalités au sein de la communauté des chercheurs travaillant dans les sciences biomédicales. Il semble donc légitime de s'interroger sur la démarche éthique de l'expérimentateur telle qu'elle nous apparaît à l'heure actuelle. C'est l'objet de cet article.

Ouvrons le propos en partant de l'exemple de la production d'anticorps monoclonaux chez la souris selon la méthode de l'ascite.

Dans les années 1970, deux brillants chercheurs, Georges Kohler et Cesar Milstein, mirent au point une nouvelle technologie pour produire des anticorps monoclonaux. Par leur sélectivité, ces anticorps jouèrent et jouent encore un rôle considérable dans les progrès de la médecine et de la recherche biomédicale, notamment pour le diagnostic et la thérapie du cancer.

Essentielle, la découverte de Kohler et Milstein l'était, et elle leur valut d'ailleurs une publication dans la prestigieuse revue « Nature » en 1975 et le prix Nobel de médecine et de physiologie en 1984. Cependant, revers

de la médaille, la technique élaborée par les deux chercheurs, la méthode dite de l'ascite, impliquait une forte instrumentalisation des souris de laboratoire, pour lesquelles elle se révélait douloureuse. En outre, elle nécessitait le recours à un nombre relativement important d'animaux.

Depuis les années 1990, la recherche in vitro a le vent en poupe. En 2000, elle fut en mesure de proposer diverses alternatives à la synthèse des anticorps monoclonaux selon la méthode de l'ascite. Et en 2004, soit 20 ans à peine après l'attribution du prix Nobel à Kohler et Milstein, cette technique *in vivo* fut interdite par le législateur belge. On peut supposer que si ce dernier prit en compte l'évolution de la technologie biomédicale, l'écllosion de méthodes alternatives, il fut guidé tout autant par des considérations éthiques relatives à l'expérimentation sur l'animal et au bien-être de celui-ci. Une chose est certaine : une barrière législative était établie et le chercheur devait s'y conformer.

2. Fondements de la démarche éthique en expérimentation animale

Les temps ont changé et, avec eux, les mentalités du citoyen et du chercheur. On ne peut que saluer la reconnaissance dont jouit désormais l'interdisciplinarité. L'évolution de la pensée dans le sens de cette ouverture nous permet dorénavant de construire un dialogue extrêmement fructueux, que ce soit au sein de structures

comme la Fondation Prince Laurent - pour donner un exemple relatif à mon pays d'origine -, au sein des associations de protection animale, comme l'OPAL en France, au sein des centres de recherche universitaire ou encore des commissions d'éthique en expérimentation animale. Si l'on circonscrit le propos à la problématique des animaux de laboratoire, il convient de souligner l'existence, dans la pensée francophone, de principes éthiques généraux et de principes éthiques spécifiques.

■ *Principes éthiques généraux pour l'étude du vivant*

> Principe de scientificité

Quels sont les fondements et le contexte de l'utilisation de l'animal en recherche ?

Selon le point de vue « inductiviste », l'élaboration d'un modèle en science repose sur la formulation de lois scientifiques à partir d'observations du monde. Les modèles ainsi conçus n'en sont cependant que des représentations partielles, dans la mesure où le nombre d'observations reste lui-même limité. Dans certains cas, les modèles pourront servir de substituts à la réalité.

C'est dans ce cadre conceptuel que s'inscrit le « modèle animal ». La législation impose d'ailleurs le recours à cette méthodologie en l'absence de méthode alternative validée. La transposition des résultats d'une expérience réalisée chez une espèce vivante, telle la souris, vers une deuxième espèce, en l'occurrence l'homme, est généralement bien acceptée.

> Principe de bienfaisance et de non-malfaisance

L'expérimentation animale a-t-elle une motivation économique, thérapeutique, diagnostique ou cognitive ?

Dans la sphère spécifique de l'expérimentation biomédicale, une des principales indications du recours à l'animal est la prévision des effets potentiellement toxiques de certaines substances, notamment chimiques, médicamenteuses et cosmétiques, chez l'homme.

Si les finalités thérapeutiques et cognitives de ce type d'expérience sont considérées comme essentielles, se pose néanmoins la question suivante : la souffrance imposée à l'animal est-elle justifiable, même si elle permet d'atténuer la souffrance humaine ? Autrement dit, la bienfaisance est-elle limitée à l'homme ou est-elle universelle ? Sur ce point s'affrontent une vision anthropocentrique du monde et une conception plus biocentrique basée sur l'intégration de l'espèce humaine dans la biodiversité. Transparaît également dans ce débat l'écart entre l'éthique fondée sur la conviction et l'éthique fondée sur la responsabilité.

> Principe de responsabilité

Quelles sont les conséquences de l'expérimentation animale pour l'animal et pour l'homme ?

Le chercheur, l'éthicien et l'épistémologue doivent s'engager dans ce débat. L'éventuelle incompatibilité du modèle animal choisi avec le type de recherche menée chez l'homme n'est pas ici l'unique pierre d'achoppement potentielle. La question de la souffrance animale en est une autre. Et elle draine dans son sillage plusieurs

enjeux qui demeurent très controversés : comment évaluer cette souffrance ? Les animaux sont-ils sujets au même type de souffrance que l'homme ?

■ *Principes éthiques spécifiques pour l'expérimentation animale*

> Principe de proximité phylogénétique

Plus une espèce vivante utilisée en laboratoire est phylogénétiquement proche de l'homme, plus le modèle expérimental qu'elle sous-tend est jugé pertinent, mais aussi plus la détresse de l'animal, sa souffrance et son degré de conscience risquent d'être élevés. Un compromis doit être trouvé entre la « validité » du modèle, liée à sa proximité phylogénétique par rapport à l'espèce humaine, et la dimension éthique qui, privilégiant les espèces plus éloignées phylogénétiquement de l'homme, vise à réduire la souffrance des animaux.

> Principe de proportionnalité

Dans les cas où il n'existe pas de méthode alternative validée, l'utilisation d'animaux en tant que « bioréacteurs vivants » est incontournable. Dans ce contexte, la question à se poser est : la souffrance infligée à l'animal est-elle justifiée ?

En 1986, le Britannique Bateson a proposé un modèle tridimensionnel d'analyse éthique portant sur l'acceptabilité d'un protocole de recherche lorsqu'il fait appel à une méthode *in vivo*. Dans ce modèle, un poids égal est accordé à la qualité de la recherche, qui doit être la plus élevée possible, à la probabilité de résultats médicaux (valorisation de la recherche, prise de brevets, mise au point de tests diagnostiques...) et à la souffrance animale, qu'il convient de minimiser. Aujourd'hui, une recherche qui serait jugée de très grande valeur et posséderait des probabilités élevées de résultats pourrait néanmoins se voir interdite par une commission d'éthique si elle est de nature à engendrer une importante souffrance animale. Voilà assurément qui témoigne de l'attention portée désormais à la composante éthique dans la sphère de l'expérimentation animale.

> Principe des 3 R

La mise au point de méthodes alternatives a permis une réduction du nombre d'animaux sacrifiés dans nos laboratoires ainsi que de la douleur et de la souffrance qui leur sont infligées. Pour beaucoup, le concept d'alternatives à l'expérimentation animale est né en 1959, quand les zoologistes britanniques William RUSSELL et Rex BURCH énoncèrent le principe dit des 3 R, qui fit progressivement florès.

Le premier R, symbolise le *remplacement* de l'animal de laboratoire. Il concerne toute méthode (expérience, modélisation ou simulation) n'utilisant pas d'êtres sensibles. Total ou partiel, le remplacement se révèle idéal s'il permet d'obtenir l'information scientifique désirée avec le même degré de fiabilité et de sécurité pour l'homme que l'expérimentation animale.

Toutefois, pour des raisons scientifiques, éthiques, juridiques ou même économiques, voire d'urgence, cette procédure ne peut pas toujours être suivie. Il convient

alors de se tourner vers les deux autres R. Précisément, le deuxième R, la *réduction*, repose sur la mise en œuvre de toute stratégie ou technologie visant à diminuer le nombre total d'animaux de laboratoire nécessaires pour réaliser l'expérience souhaitée, sans compromettre l'obtention de l'information biologique désirée ni sa valeur scientifique. La diminution générale du nombre d'animaux employés à des fins expérimentales est devenue une réalité tangible aujourd'hui.

Troisième R : le *raffinement*, dont le but est le respect de la valeur intrinsèque de l'animal, la prise en compte de son bien-être et le déploiement de toutes les mesures capables de minimiser la souffrance et la douleur infligées lors d'un essai *in vivo* lorsque celui-ci s'avère indispensable. Avant même qu'un animal de laboratoire ne soit utilisé dans une procédure expérimentale, il est essentiel de se soucier de son bien-être en améliorant ses conditions d'hébergement, en se préoccupant de ses besoins physiologiques et éthologiques ainsi qu'en préservant au mieux son environnement. Lors d'essais douloureux, le chercheur aura recours à l'analgésie - suppression de la douleur - et à l'anesthésie - suppression de l'état de conscience. Il veillera également à ne pas prolonger inutilement les expériences.

Il paraît fort probable que, utilisés à bon escient, les quatre outils dont nous disposons - la science, le droit, l'éthique et l'épistémologie - nous amèneront à envisager, dans les années à venir, le concept des 3 R sous son angle le plus favorable : le remplacement (déjà effectif dans un nombre limité de cas) de l'expérimentation animale et, lorsqu'il ne sera pas possible, la réduction ou le raffinement de celle-ci.

3. Éthique appliquée à l'expérimentation animale

Après avoir développé brièvement les principaux fondements qui sous-tendent la démarche de l'expérimentateur dans son analyse éthique concernant l'expérimentation animale, plaçons-nous dans la pratique quotidienne des laboratoires.

Les chercheurs y sont au contact direct des animaux inclus dans leurs protocoles expérimentaux. Ils disposent d'outils cliniques permettant d'évaluer le bien-être de ces animaux, et dans les cas les plus défavorables, leur mal-être, caractérisé par les états de stress, d'inconfort, de douleur voire de souffrance, états qui peuvent se révéler évolutifs. Dans certaines situations, les animaux de laboratoire passent progressivement d'une situation de bien-être relatif à une situation de souffrance intense, pouvant évoluer lentement ou plus rapidement vers son agonie. Dans ce cas, l'expérimentateur se doit d'agir.

En effet, au-delà d'un certain point limite, l'évolution de l'animal vers la mort devient irréversible. Éthiquement, il convient alors de mettre fin à ses jours, d'une manière dite « humaine » ou encore « humanitaire » en procédant à l'euthanasie de l'animal, selon des protocoles bien définis. Dans cette hypothèse, l'expérimentateur fonde sa décision sur une valeur seuil (le point limite) d'une variable physiologique ou de paramètres biologiques validés qui, dans le cas de l'administration d'un vaccin, par

exemple, peuvent être des valeurs seuil de la température corporelle de l'animal ou de sa perte de poids.

4. Enjeux géopolitiques de l'éthique de l'expérimentation animale

La société contemporaine interpelle le chercheur afin qu'il prenne en considération le bien-être de l'animal de laboratoire et qu'il réduise au maximum sa souffrance. Cette aspiration trouve une réponse concrète dans l'évaluation éthique rationnelle des expérimentations animales, dans l'application du principe des 3 «R» à la recherche biomédicale, ou encore dans le développement et la validation de méthodes alternatives à l'expérimentation animale.

Dans le contexte actuel de la mondialisation et de la compétitivité exacerbée que se livrent les grandes puissances économiques et les pays émergents, les enjeux géopolitiques de la recherche scientifique, non négligeables, ne devraient pas être sous-estimés.

En effet, une situation paradoxale est en train de voir le jour dans ce débat de société : le risque de délocalisation des entreprises les plus performantes dans le domaine des biotechnologies.

Cette situation pourrait être à redouter si les contraintes relatives à l'expérimentation animale étaient considérées comme excessives aux yeux des décideurs. Dans ce cas, on assisterait à une inversion de la finalité poursuivie par les défenseurs de la cause animale, puisque les laboratoires émigreraient dans des pays moins sensibles aux questions éthiques en général, et à celles soulevées par l'expérimentation, en particulier. Parmi les solutions pour pallier les inconvénients d'une telle situation, il est nécessaire de proposer des démarches éthiques rationnelles basées sur des fondements acceptés dans d'autres contextes civilisationnels et, si possible, de portée universelle.

5. Conclusion

L'animal, qu'il soit matériel ou immatériel, symbolique, de rente, de compagnie, de loisir ou de laboratoire, joue un rôle majeur dans la société contemporaine. Il est au centre de très nombreuses activités humaines.

Parmi celles-ci, les biotechnologies occupent une place particulière au sein de l'économie de la connaissance émergente, puisqu'elles reposent sur l'utilisation et l'instrumentalisation du vivant. Le développement important des connaissances scientifiques et des progrès de la biomédecine se sont accompagnés progressivement d'une demande sociétale de prise en considération d'une réflexion éthique concernant l'utilisation des animaux dans les protocoles expérimentaux.

Contrairement à d'autres domaines de la bioéthique, relativement bien connus, les principes éthiques, hormis peut-être celui des 3 R, appliqués à l'expérimentation animale constituent, encore aujourd'hui, un champ d'investigation relativement vierge. Ces principes sont cependant essentiels pour accompagner les expérimentateurs dans leurs démarches et réflexions éthiques. ■

Lectures conseillées

J-P BEAUFAYS : Evolution de la perception de l'animal dans la société européenne.

In : C. DEFRAIGNE, Colloque Animal et Société au 21ème siècle. Le statut en question : carences, solutions, perspectives. Maison des Parlementaires, Bruxelles, le 26 février 2010

J.-P. BEAUFAYS, Les principes éthiques généraux pour l'étude du vivant et les principes éthiques spécifiques pour l'expérimentation animale, p. 105 à 107.

In : M. LEJEUNE et J.-L. TOURAINE, Rapport sur l'expérimentation animale en Europe. Quelles alternatives ? Quelle éthique ? Quelle gouvernance ? Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques.

Les Rapports de l'OPECST, N° 22145 (Assemblée Nationale) et N° 155 (Sénat) France, Sénat et Assemblée nationale, Paris, le 9 Décembre 2009

J.-P. BEAUFAYS, Ed. Dossier thématique : Les méthodes alternatives à l'expérimentation animale : choix éthique et meilleure science ? Société Scientifique de Bruxelles. Revue des Questions scientifiques, (double Numéro spécial) Tome 176, N° 3 et 4, p. 210 - 416 (2005)

J. DUCHENE, J.P. BEAUFAYS, L. RAVEZ, Eds, Entre l'homme et l'animal : une nouvelle alliance ? Collection «Epistémologie et éthique du vivant », N° 2. Presses Universitaires de Namur, 338 p. (2002)

J.-M. GIFFROY, J.-P. BEAUFAYS, Le bien-être animal. Aspects historiques et concept. Les Publications de la Fondation Prince Laurent, N°1, Bruxelles, 33 p. (2001)

7

Les limites des techniques « raffinantes »

Patrick Gonin

Institut Gustave Roussy, Villejuif

Résumé

Le « raffinement » des expérimentations sur animaux fait intervenir les notions d'amélioration du confort et de la qualité de vie. C'est un domaine extrêmement vaste qui inclut des aspects déjà réglementés (mais dans des limites relativement larges), comme par exemple, la température et l'humidité et, bien entendu, les interactions sociales (vie en groupe) et l'enrichissement. Dans tous les cas, il est avéré que les manières d'enrichir le milieu pour une espèce donnée sont généralement très variables, et parfois controversées dans leurs modalités.

La prise en compte de l'enrichissement, et du détail des éléments contribuant au confort, est d'autant plus cruciale que la législation décourage la duplication d'expériences. Cette disposition législative prévoit implicitement qu'en théorie, des expériences effectuées dans des laboratoires différents donneront des résultats identiques si elles ont de bonnes comparabilités et reproductibilités.

Nous sommes donc en présence de pratiques dont l'implication intuitive est l'augmentation de la variabilité, dans un contexte d'effort de réduction des expériences, et de recherche de l'absence de duplication. Ces deux prémisses semblent à premier abord, et vues sous un angle intuitif et non scientifique, contradictoires.

Des travaux récents sur la standardisation des expérimentations in vivo semblent montrer d'une part que c'est un domaine complexe qui exige d'avoir accès à des bio-statistiques de qualité, et d'autre part que, paradoxalement, la variabilité introduite par l'enrichissement va plutôt contribuer à l'augmentation de la reproductibilité que l'inverse.

L'impact des techniques de raffinement sur la validité des résultats expérimentaux doit plutôt être vu comme un moyen contrôlable d'introduire une hétérogénéité environnementale bénéfique. De plus, le cas échéant, cette variable peut et doit être introduite dans les modèles mathématiques de plus en plus adaptés (et sophistiqués) qui devraient être utilisés pour analyser les résultats des expériences in vivo.

Les limites des techniques « raffinantes » seront donc bien les limites de notre capacité à les utiliser d'une façon réfléchie et scientifique d'une part pour introduire une variabilité bénéfique, et d'autre part pour recueillir, dans nos résultats, les bénéfices découlant de l'amélioration scientifiquement valide du bien-être des animaux.

L'évocation des 3 R date de plus de cinquante ans. Le degré basique du raffinement des conditions de vie des animaux en expérimentation s'est d'abord concrétisé par l'introduction réglementaire de normes de température, hygrométrie, surface. L'importance de la vie en groupe en expérimentation a aussi été démontrée pour plusieurs espèces, alors que dans les années quarante, l'isolement était la règle.

Dans un premier temps, les domaines dans lesquels l'impact de l'enrichissement a été prouvé seront passés en revue, puis les différents types d'enrichissement, et enfin, l'impact des pratiques d'enrichissement sur la robustesse, la reproductibilité et la répétabilité des expériences seront examinés.

Les chercheurs qui étudient le comportement (la mémoire, l'anxiété, les dépendances) ont été les premiers à suspecter l'importance de la stimulation des animaux utilisés comme modèles dans ces domaines. Des mutants dans lesquels un gène suspecté d'intervenir dans le comportement a été invalidé ont permis par la suite de démontrer l'impact de l'enrichissement.

Les premiers chercheurs à étudier formellement l'impact de l'enrichissement sur les résultats de leurs tests phénotypiques sont donc les chercheurs dans le domaine de la neurologie et du comportement. En neurologie, on peut citer, à titre d'exemple, deux maladies pour lesquelles l'effet est clair. Il s'agit tout d'abord de la maladie de Huntington. Le développement de la maladie est moins rapide chez les animaux stimulés dans leur environnement (van Dellen et al, 2000, Wood et al, 2010). Les chercheurs en infèrent d'ailleurs des recommandations pour le traitement des patients. Dans le cas de la maladie de Rett, l'enrichissement précoce permet une amélioration très importante du phénotype (Kerr et al, 2010, Lonetti et al, 2010).

Plus précisément, et toujours dans le domaine de la neurologie, des groupes s'attachent en ce moment à déterminer par quels mécanismes l'enrichissement impacte la fonction des neurones. Il a été d'ailleurs démontré récemment que l'enrichissement environnemental impacte la neurogénèse au niveau de l'hippocampe. Cet effet est différentiel sur la croissance des neurones, en

fonction des sous populations, et est généralement à long terme (LLorens-Martin et al, 2010, Ali et al, 2009). Couplé à de l'exercice physique, il intervient dans la régulation de la neurogénèse dans un modèle de maladie d'Alzheimer (Mirochnic et al, 2009). Enfin, l'enrichissement et l'activité physique ont un impact sur le comportement alimentaire, la production de leptine, et la sensibilité à l'insuline (Mainardi et al, 2010).

Logiquement, l'enrichissement a aussi un impact sur l'allergie et l'inflammation, et sur plusieurs composantes du système immunitaire. Il augmente certaines fonctions immunes (fonctionnement des macrophages, des lymphocytes, des NK, la production d'IL-2 et de TNF-alpha), et, a contrario, il diminue le stress oxydatif et l'inflammation (Arranz et al, 2010). Il a aussi un effet bénéfique sur la longévité (diminution de l'expression des gènes liés à l'inflammation et à l'immunité dans un modèle presenilin 1 & 2 knock-out (Dong et al, 2007)). Une autre étude démontre un effet équivalent d'injections d'ocytocine ou de l'enrichissement sur la cicatrisation (Vitalo et al, 2009).

Dernière en date, mais non des moindres, une étude rétrospective sur plusieurs années de travaux dans le domaine des modèles animaux de cancer démontre un impact important de l'enrichissement sur la croissance des tumeurs (Cao et al, 2010). En effet, avec un modèle de cancer très agressif (cellules B16), les auteurs ont obtenu une diminution du volume des tumeurs de 43% en 3 semaines. Dans ce travail, les auteurs font une étude mécanistique de l'effet de l'enrichissement sur la croissance tumorale, et déterminent des cascades métaboliques en cause. Les cascades liées à l'angiogénèse, la sécrétion d'IGF-1 sont diminuées, suite à des modifications au niveau du BDNF et de la leptine. L'effet direct sur le cerveau a donc des conséquences bien documentées sur l'angiogénèse et le système immunitaire, qui expliquent l'effet sur la croissance des tumeurs.

Il est à noter cependant, et c'est important, que les modalités exactes d'enrichissement du milieu pour les animaux modèles sont généralement très peu documentées dans les comptes-rendus des travaux scientifiques.

La prise en compte du confort et du bien être des animaux de laboratoire (ici nous traiterons uniquement des rongeurs) s'est faite graduellement. Limitée d'abord au confort, elle s'est étendue progressivement à la vie en groupe social, puis à la mise à disposition de matériels permettant des activités, des jeux, des exercices physiques. Ceci inclut des litières stimulant une activité (grattage, fabrication de nids) ou des éléments de type maisons, jeux, voire roues, tunnels, etc...

Les possibilités techniques pouvant supposément constituer un enrichissement sont quasi illimitées, et leur impact est relativement peu évalué d'une façon systématique et scientifique. Certains matériels proposés par certains fournisseurs ont un aspect anthropomorphique, qui ne peut contribuer au bien être animal que par le contre-coup d'amélioration psychologique pour l'animalier ou l'expérimentateur (on peut citer pour mémoire les jeux en plastic de plusieurs couleurs pour souris, qui ne voient qu'en niveaux de gris). Le point important est que la grande variété des possibilités existantes induit intuitive-

ment à craindre l'introduction concomitante d'une variabilité extrême dans les modalités d'enrichissement, et du même coup une non reproductibilité / répétabilité des résultats entre les instituts ou les centres de recherche.

Pour répondre à cette interrogation (qui est parfois présentée non comme un questionnement mais comme une évidence factuelle), il convient de se pencher sur la standardisation *in vivo*. Un mouvement actuel va dans le sens (surtout dans le domaine du développement pharmaceutique préclinique) d'une standardisation extrême des conditions d'expérimentation. Elle a été étudiée systématiquement dans le cadre d'étude de motricité et de comportement (sur la dépendance alcoolique), et a abouti à des résultats très décevants (Crabbe et al, 1999 ; Wahlsten et al, 2003). Le fait de standardiser à l'extrême les conditions expérimentales n'améliorait pas la comparabilité inter-laboratoire.

Ceci est dû à une mécompréhension. En fait, l'augmentation de la standardisation permet de réduire les différences individuelles et permet l'augmentation de la reproductibilité. Elle ne permet donc pas d'augmenter l'applicabilité des résultats ni de répondre à la question : « vos résultats sont ils applicables aussi dans d'autres contextes environnementaux ? ». Elle ne permet pas d'obtenir des résultats robustes. A contrario, la standardisation conduit à détecter des micro-effets non transposables dans d'autres laboratoires et peu informatifs sur le phénomène étudié (Würbel H, 2000). Wolfer et al (2004) ont étudié systématiquement l'interaction de l'effet laboratoire x souche dans un contexte enrichi ou non. Ils ont trouvé que l'enrichissement de l'environnement contribuait pour 7,6 % sur les 60% de variance totale. De plus, l'effet de l'enrichissement était non significatif et son impact (interférence) sur les résultats avait un sens de variation différent selon les paramètres mesurés. La conclusion était que l'enrichissement du milieu induisait une variation faible et aléatoire dans les résultats d'expérience.

En 2009 et 2010, le groupe d'Hanno Würbel étudie plus avant l'impact de la standardisation sur les résultats d'expériences dans le domaine du comportement (Richter et al, 2009, 2010). Ces études sont appuyées par des statistiques solides et de qualité. Ils observent que la standardisation diminue la variabilité intra-expérimentale, mais en contrepartie, induit la détection d'effets idiosyncratiques et non reproductibles dans d'autres laboratoires. Elle contribue à la publication de résultats conflictuels, non robustes, et non reproductibles ailleurs. Elle induit la sur-représentation de micro-effets dus à des accumulations de variation polarisée involontairement par le dispositif expérimental.

Sans entrer dans les détails complets, cette équipe a analysé les effets $y = \text{souche} + \text{réplicat} + \text{souche} \times \text{réplicat}$ au moyen d'un modèle linéaire général. Ceci a été fait sur 20 paramètres de comportement, sur 432 souris de 3 souches différentes (2 congéniques : C57BL/6J, DBA/2, 1 hybride : B6D2F1).

La variance entre les expériences répliquées était significativement plus grande pour les expériences standardisées que pour les expériences « hétérogénéisées ». Ceci indique que la standardisation induit une reproductibilité médiocre des résultats (Fig. 1).

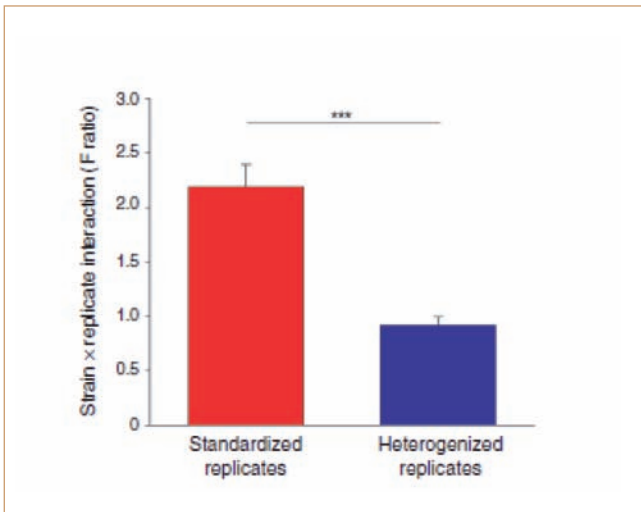


Figure 1 : Variance entre expériences répliquées

La variance est indiquée sous la forme du rapport F (\pm s.e.m.) de l'interaction souche \times répliquat pour les 20 mesures de comportement, et a été calculée séparément pour les deux dispositifs expérimentaux (Standardisé ou Hétérogénéisé). La standardisation a induit une variance significativement plus grande en comparaison avec l'hétérogénéisation ($F_{1,18}=40,331, p<0,001$). Chaque répliquat correspond à $n=8$ souris par souche. (Richter SH, Garner JP, Auer C, Kunert J, Würbel H. Systematic variation improves reproducibility of animal experiments. *Nat Methods*. 2010 Mar;7(3):167-8)

Pour voir si ceci était associé à une augmentation des résultats faux dans les répliquats standardisés, les auteurs ont évalué le taux de faux positifs (erreur de type I). Pour ce faire, ils ont rassemblé en un pool les 432 souris (144 par souche), quel que soit le laboratoire, le lot, et les conditions d'enrichissement. Ceci a permis de voir le vrai effet souche. Sachant que les résultats d'expérimentation animale devraient être reproductibles entre différents laboratoires, ceci était la meilleure méthode pour estimer la vraie différence liée à la souche. La différence de souche a donc été estimée sur les 20 variables de comportement. Pour estimer le taux de faux positifs, les auteurs ont regardé quand des souches donnaient des résultats significativement différents dans des répliquats, et pas dans les données poolées. Un « faux-positif » était donc, dans ces conditions, un résultat idiosyncratique d'une seule expérience. Dans ces conditions, il a été trouvé que les répliquats standardisés produisaient 9,4% de faux positifs, alors qu'il n'y en avait que 1,3% dans les répliquats « hétérogénéisés » (Fig.2a). Ceci indique bien que la standardisation augmente le taux de résultats idiosyncratiques.

Pour vérifier si c'était bien un effet biologique et non un artefact, les auteurs ont examiné l'erreur de deuxième espèce. En effet, la probabilité d'obtenir un faux positif dépend de la puissance statistique de l'analyse. Puisque on s'attend, du fait de l'« hétérogénéisation » environnementale, à une augmentation de variation des données à l'intérieur des répliquats, on s'attend aussi à une puissance statistique moindre dans les répliquats « hétérogénéisés ». Le nombre de faux négatifs a donc été étudié, et il est inversement relié à la puissance statistique. Un résultat a été considéré faux négatif quand deux souches n'étaient pas trouvées différentes dans un répliquat, alors

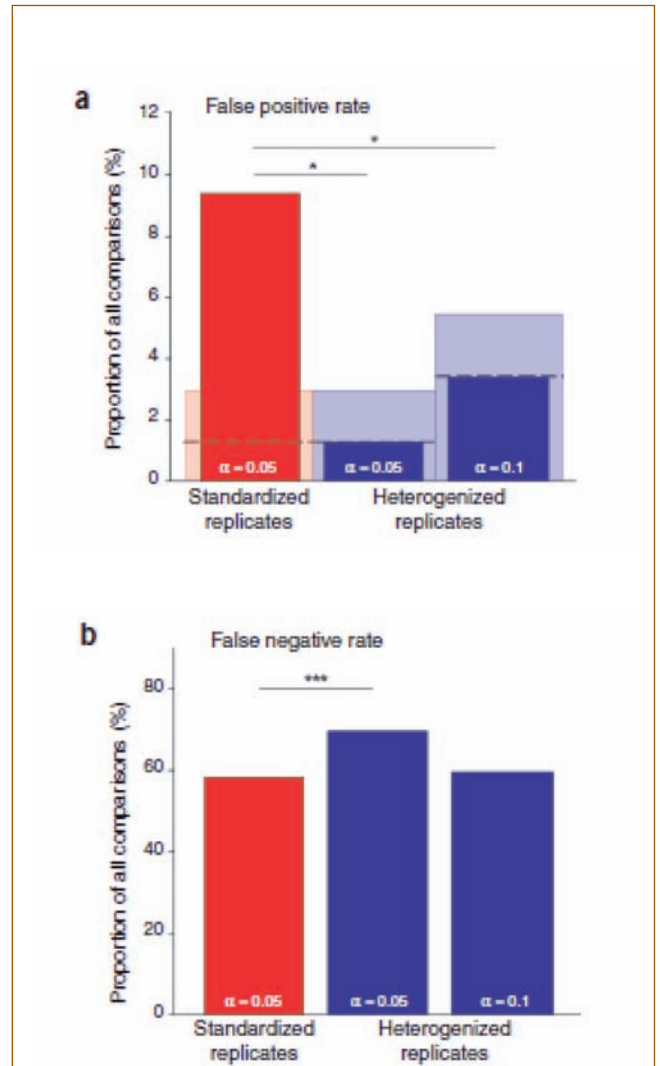


Figure 2 : Taux de faux positifs et de faux négatifs

(a) Le taux de faux positifs (%) en référence aux différences 'vraies' de souche dans les données regroupées (pool) était significativement plus bas dans les répliquats hétérogénéisés (Test de Wilcoxon unilatéral), même avec un risque \pm critique de 0,1 pour les répliquats hétérogénéisés pour égaliser la puissance. De plus, le taux de faux positifs dans les répliquats standardisés était significativement plus grand qu'attendu par hasard (test binomial). Les lignes en pointillés montrent la proportion de faux positifs dérivée de la distribution binomiale, tandis que la probabilité d'avoir un faux positif a été corrigée du fait des tests multiples (comparaison de trois souches par mesure), en utilisant la formule $1-(1-\alpha)^{1/3}$ pour maintenir des taux d'erreur par famille respectivement de 0,05 ou 0,1. Les barres plus claires donnent les limites supérieures des intervalles de confiance au dessus desquelles le taux de faux positif était significativement supérieur à celui qui était attendu.

(b) Le taux de faux négatifs était significativement inférieur dans les répliquats standardisés (Test de Wilcoxon unilatéral), ce qui démontre une puissance statistique supérieure (puissance = 1-) La puissance a été égalisée en utilisant un seuil de signification relaxé ($\pm=0,1$, au lieu de 0,05), pour les répliquats hétérogénéisés.

(Richter SH, Garner JP, Auer C, Kunert J, Würbel H. Systematic variation improves reproducibility of animal experiments. *Nat Methods*. 2010 Mar;7(3):167-8)

qu'elles l'avaient été dans les données « poolées ». Le résultat obtenu a été effectivement un taux de faux négatifs inférieur dans les données standardisées (58,2%), par rapport aux données hétérogénéisées (69,9%) (Fig 2b). Ceci pourrait vouloir dire que le plus faible taux de faux positifs dans les données « hétérogénéisées » était en fait dû à une probabilité diminuée de détecter des différences.

Les auteurs ont donc réanalysé les réplicats « hétérogénéisés » en utilisant un niveau de significativité plus faible (0,1 au lieu de 0,05), pour égaliser la variance entre les réplicats standardisés et « hétérogénéisés ». Ceci a permis de diminuer le taux de faux négatifs, et obtenir le même taux dans les réplicats standardisés ou « hétérogénéisés », ce qui confirme l'égalité de puissance (Fig 2b). Dans ce cas, le taux de faux positifs demeurerait toujours inférieur dans les réplicats « hétérogénéisés », et n'était pas supérieur à la valeur qui serait obtenue seulement par hasard (Fig 2a). Ceci confirme que ces résultats ne sont pas des artefacts qui auraient pu être produits par une sensibilité inférieure du test. Ceci démontre que la standardisation environnementale produit systématiquement des résultats idiosyncratiques à des niveaux supérieurs à ce qui se serait produit uniquement par hasard, et n'est pas capable de garantir des résultats reproductibles.

De plus, la standardisation aboutit souvent à une utilisation inutile et non rationnelle d'un nombre important d'animaux (la détection de petits effets non robustes demande la répétition de nombreux lots).

En conclusion, l'enrichissement a un impact prouvé et indéniable sur les résultats d'expériences et interfère souvent positivement avec l'évolution des pathologies modélisées. La mise en place de l'enrichissement du milieu, même avec des modalités variables, mais à condition qu'il soit efficace, augmentera la variabilité individuelle de manière aléatoire: pas d'impact sur les effets informatifs (sauf dans le cas où il y a une interaction causale). L'enrichissement environnemental augmentera la robustesse des résultats et donc leur « transposabilité ».

Il reste la question de la comparaison des résultats actuels ou futurs obtenus dans un contexte d'enrichissement avec les anciennes expériences (sans enrichissement). Dans le domaine de la neurologie, certains chercheurs n'hésitent pas à dire que les observations qui datent de plusieurs années n'ont rien à voir avec les phénomènes qui étaient étudiés mais sont juste le reflet des stress aigu et chronique de l'animal.

Il est donc essentiel d'enrichir le milieu des animaux de laboratoire d'une façon rationnelle : vérification scientifique de son efficacité. Il peut dans tous les cas être inclus comme un facteur dans l'analyse de variance pour en vérifier la contribution éventuelle. Dans le cas où une interaction serait identifiée, il serait scientifiquement intéressant d'aller plus avant, car ceci constituerait indéniablement un apport à la connaissance. Le domaine qui concerne l'enrichissement est intéressant et vaste car il est sous la dépendance du cerveau, et les signaux transissent ensuite par le système nerveux (dont le système végétatif), et les hormones et cytokines : impact sur le comportement, en neurologie, en immunologie et en cancérologie, au minimum. La connaissance concernant

ce domaine est récente, et le nombre de travaux augmente actuellement très rapidement. Il est probable que la preuve de son intérêt soit apportée rapidement dans plusieurs autres domaines. ■

Références

- Van Dellen A, Blakemore C, Deacon R, York D, Hannan AJ. Delaying the onset of Huntington's in mice. *Nature*. 2000 Apr 13;404(6779):721-2. PubMed PMID: 10783874.
- Wood NI, Carta V, Milde S, Skillings EA, McAllister CJ, Ang YL, Duguid A, Wijesuriya N, Afzal SM, Fernandes JX, Leong TW, Morton AJ. Responses to environmental enrichment differ with sex and genotype in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *PLoS One*. 2010 Feb 12;5(2):e9077.
- Kerr B, Silva PA, Walz K, Young JI. Unconventional transcriptional response to environmental enrichment in a mouse model of Rett syndrome. *PLoS One*. 2010 Jul 12;5(7):e11534. PubMed PMID: 20634955; PubMed Central PMCID: PMC2902516.
- Lonetti G, Angelucci A, Morando L, Boggio EM, Giustetto M, Pizzorusso T. Early environmental enrichment moderates the behavioral and synaptic phenotype of MeCP2 null mice. *Biol Psychiatry*. 2010 Apr 1;67(7):657-65. Epub 2010 Feb 20.. PubMed PMID: 20172507.
- Llorens-Martín M, Tejada GS, Trejo JL. Differential regulation of the variations induced by environmental richness in adult neurogenesis as a function of time: a dual birthdating analysis. *PLoS One*. 2010 Aug 16;5(8):e12188. PubMed PMID: 20808440; PubMed Central PMCID: PMC2922333.
- Ali AE, Wilson YM, Murphy M. A single exposure to an enriched environment stimulates the activation of discrete neuronal populations in the brain of the fos-tau-lacZ mouse. *Neurobiol Learn Mem*. 2009 Oct;92(3):381-90. Epub 2009 May 18. PubMed PMID: 19450699.
- Mainardi M, Scabia G, Vottari T, Santini F, Pinchera A, Maffei L, Pizzorusso T, Maffei M. A sensitive period for environmental regulation of eating behaviour and leptin sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Sep 21;107(38):16673-8. Epub 2010 Sep 7. PubMed PMID: 20823242; PubMed Central PMCID: PMC2944733.
- Mirochnic S, Wolf S, Staufenbiel M, Kempermann G. Age effects on the regulation of adult hippocampal neurogenesis by physical activity and environmental enrichment in the APP23 mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus*. 2009 Oct;19(10):1008-18. PubMed PMID: 19219917.
- Arranz L, De Castro NM, Baeza I, Maté I, Viveros MP, De la Fuente M. Environmental enrichment improves age-related immune system impairment: long-term exposure since adulthood increases life span in mice. *Rejuvenation Res*. 2010 Aug;13(4):415-28. PubMed PMID: 20707722.
- Dong S, Li C, Wu P, Tsien JZ, Hu Y. Environment enrichment rescues the neurodegenerative phenotypes in presenilins-deficient mice. *Eur J Neurosci*. 2007

Jul;26(1):101-12. PubMed PMID: 17614943.

Vitalo A, Fricchione J, Casali M, Berdichevsky Y, Hoge EA, Rauch SL, Berthiaume F, Yarmush ML, Benson H, Fricchione GL, Levine JB. Nest making and oxytocin comparably promote wound healing in isolation reared rats. *PLoS One*. 2009;4(5):e5523. Epub 2009 May 13. PubMed PMID: 19436750; PubMed Central PMCID: PMC2677672.

Cao L, Liu X, Lin EJ, Wang C, Choi EY, Riban V, Lin B, Doring MJ. Environmental and genetic activation of a brain-adipocyte BDNF/leptin axis causes cancer remission and inhibition. *Cell*. 2010 Jul 9;142(1):52-64. PubMed PMID: 20603014.

Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science*. 1999 Jun 4;284(5420):1670-2. PubMed PMID: 10356397.

Wahlsten D, Metten P, Phillips TJ, Boehm SL 2nd, Burkhart-Kasch S, Dorow J, Doerksen S, Downing C, Fogarty J, Rodd-Henricks K, Hen R, McKinnon CS, Merrill CM, Nolte C, Schalomon M, Schlumbohm JP, Sibert JR, Wenger CD, Dudek BC, Crabbe JC. Different data from different labs: lessons from studies of gene-

environment interaction. *J Neurobiol*. 2003 Jan;54(1):283-311. Review. PubMed PMID: 12486710.

Rampon C, Tang YP, Goodhouse J, Shimizu E, Kyin M, Tsien JZ. Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat Neurosci*. 2000 Mar;3(3):238-44. PubMed PMID: 10700255.

Würbel H. Behaviour and the standardization fallacy. *Nat Genet*. 2000 Nov;26(3):263. PubMed PMID: 11062457.

Wolfer DP, Litvin O, Morf S, Nitsch RM, Lipp HP, Würbel H. Laboratory animal welfare: cage enrichment and mouse behaviour. *Nature*. 2004 Dec 16;432(7019):821-2. PubMed PMID: 15602544.

Richter SH, Garner JP, Auer C, Kunert J, Würbel H. Systematic variation improves reproducibility of animal experiments. *Nat Methods*. 2010 Mar;7(3):167-8. PubMed PMID: 20195246.

Richter SH, Garner JP, Würbel H. Environmental standardization: cure or cause of poor reproducibility in animal experiments? *Nat Methods*. 2009 Apr;6(4):257-61. PubMed PMID: 19333241.

8

Le quatrième R : la Responsabilité de l'expérimentateur

Bernard Andrieux

Ancien chargé de mission sur l'expérimentation animale au ministère de la recherche

Résumer les trois colloques et les trente conférenciers qui se sont succédés ici serait Risqué, mieux vaut simplement mener une Réflexion sur les 3 R dans l'optique de Reconnaître si toute l'expérimentation animale (EA) peut se Réduire à ce concept et orienter la Raison des expérimentateurs.

Première réflexion : les 3 R sont étroits, et réductions.

Ils ne font que réduire le nombre des animaux utilisés, réduire les cas où on peut les utiliser, réduire les contraintes occasionnées... un peu comme si en EA tout n'était qu'excès et démesure, et laisse accroire que, à force de réduire, on pourrait tendre vers zéro. Certes cette tendance est souhaitable, mais l'afficher comme possible « grâce aux 3 R » trouble beaucoup d'esprits qui souhaiteraient qu'on y atteigne très vite, plus vite. Les 3 R sont des principes, généreux, et utiles quand on veut avoir une démarche clairvoyante, mais ils ne donnent aucune piste pour se mettre en action. Enfin les 3 R sont très simples, trop simples, ils emportent à l'emporte-pièce la conviction du public, mais l'EA n'est pas si simple ! Enfin un regret demeure celui de ne pas avoir eu l'opportunité de demander à Russel ou à Burch, avant leur disparition, s'ils avaient pris cette trilogie des 3 R en résonance avec les 3 R de Roosevelt qui, en 1933, avaient servis d'assise à son « New Deal » pour le redressement économique (Relief, Recovery, Reform). Ces dispositions étaient-elles encore très vives dans l'esprit des Anglo-saxons en 1959, ceci aurait rendu compte, aussi, du succès des 3 R au-delà du concept qui perdure dans nos textes européens.

Deuxième réflexion : les 3 R sont-ils des principes moraux ?

Il s'agit de principes « absolus » qui s'inscrivent dans le principe « qu'il n'est pas moral de faire mal aux animaux ». Néanmoins, si on a de bonnes raisons de le faire, il convient de le faire le moins possible, morale relative, soit en ne prenant pas d'animaux (c'est vrai que le problème est alors bien éludé !), soit en leur faisant le moins mal possible, soit en ne leur faisant mal que sur très peu d'entre eux, et, comme toujours, la réglementation est le reflet de principes moraux qui sont traduits en obligations civiques, il y a donc, en résumé, dans nos textes l'expression des 3 R en fronton : Articles 1 et 3 du chapitre premier du décret 87-848, et désormais Chapitre I, article premier, 1 a de la nouvelle directive 2010/63.

Troisième réflexion : les 3 R sont-ils pour autant bien gérés et efficaces ?

Le remplacement est évidemment le verrou d'entrée de la réglementation : l'EA n'est licite que s'il n'existe pas d'autres moyens de procéder. Il convient cependant de remarquer que cette disposition concerne essentiellement les protocoles « réglementaires » (reconnaissance des essais faits dans des pays membres) et concerne peu ceux de la recherche fondamentale. Même si on peut imaginer qu'il ne soit pas utile de faire à nouveau des expérimentations qui auraient été déjà menées par ailleurs, la pertinence de la recherche implique que la plupart du temps les paramètres liés à chaque laboratoire obligent à une validation des résultats obtenus par un calibrage comparatif avec ceux des autres laboratoires. Comment ce principe de remplacement, qui paraît si simple, est-il géré ? Facilement dans les situations aisées..., mais très difficilement quand il s'agit de nuances et d'incertitudes : dans ces cas, la réglementation ne donne pas la réponse sur la licéité et seul l'expérimentateur peut être porteur de la décision en connaissance des conditions scientifiques de la substitution posée. On voit mal comment une administration, sauf à être composée elle-même de scientifiques spécialisés, pourrait arbitrer des conflits de substitution mieux que l'expérimentateur lui-même. Celui-ci est en première ligne des prises de décisions, il est responsable, plus que tout autre, des choix retenus. Quant à la capacité des substitutions, force est de constater que depuis 1991 le Centre européen de validation des méthodes alternatives n'a pas pu valider un arsenal important de méthodes qui évitent le recours aux animaux. Et même si tous les laboratoires de recherche utilisent des méthodes expérimentales fondées sur des cultures cellulaires, tissulaires ou organiques, celles-ci ne permettent pas encore de remplacer des organismes vivants doués de régulations neurohormonales, si bien que l'EA demeure nécessaire.

Le raffinement est bien présent dans les textes où figurent en bonne place l'anesthésie et l'analgésie, et, quand les douleurs ne sont pas évitables elles doivent faire l'objet d'une déclaration à l'administration. Si le savoir-faire des expérimentateurs et des zootechniciens ont aussi leur place, sont surtout déployées avec gourmandise les obligations quantitatives concernant les normes d'hébergement et de précautions car elles sont évidemment facilement mesurables. Lors des contrôles, les chiffres sont donc observables, mais les relations entre les expéri-

mentateurs et les animaux sont plus difficiles à évaluer, sauf à laisser un observateur derrière chaque opérateur, en raison de la rareté des gestes et des confinements sanitaires. La réglementation est donc contrainte de s'appuyer plus sur la qualité des hommes que sur des contrôles ponctuels.

Quant à la réduction du nombre des animaux utilisés, il n'y a aucune disposition qui encadre ce principe, et ceci rend compte du fait qu'il est impossible de prévoir dans un texte quelles seraient les quantités réduites ! La régulation de ces quantités ne peut pas être gérée par l'administration, sauf, encore une fois, à être constituée des expérimentateurs eux-mêmes pour en apprécier les contours. Il revient encore aux expérimentateurs la charge des choix.

Au total, si les 3 R sont présents dans la réglementation ils ne sont pas, par nature, susceptibles d'assurer une régulation satisfaisante ; il reste donc un champ libre important dans lequel, en s'aidant des 3 R, les hommes vont intervenir.

Quatrième réflexion : les hommes sont-ils évoqués par la réglementation ?

Bien entendu, ce sont les expérimentateurs et zootechniciens, les responsables des institutions et des établissements d'EA, et les fournisseurs d'animaux.

Les fournisseurs d'animaux de laboratoire sont en amont de toute l'EA. Ce sont eux qui assurent la qualité d'approvisionnement des laboratoires depuis de nombreuses années. On le sait, tous les animaux sont issus d'élevages, sauf quelques rares primates, ceci est contrôlé grâce aux identifications et aux registres, ceci est nécessaire pour disposer de modèles animaux fiables, ceci fonctionne de façon exemplaire.

Les responsables d'établissements d'EA sont chargés de maintenir un fonctionnement conforme aux agréments qui leur sont accordés par les préfets, et les institutions sont responsables des expérimentations qui sont pratiquées en leurs murs.

Enfin, les personnels des établissements d'EA doivent être formés en fonction de leurs activités, doivent être en nombre suffisant pour garantir un bon fonctionnement et ont une responsabilité pénale face à la Société.

Les zootechniciens doivent avoir suivi des formations de une à deux semaines pour les sensibiliser aux mesures à prendre pour respecter la biologie des animaux. Ils doivent aussi travailler au sein d'une équipe où la hiérarchie sait assumer ses responsabilités.

Quant aux personnes qui conçoivent les projets d'expériences, l'exigence de leur formation est particulièrement bien définie : quatre ans d'études supérieures en biologie, une formation spéciale pour l'EA, une formation supplémentaire pour la pratique de la chirurgie (formations dont les contenus sont contrôlés par la Commission nationale de l'EA). Bien entendu, ces formations réglementaires sont généralistes et ne peuvent prétendre couvrir finement tous les besoins d'investigation, la place est donc ouverte aux apprentissages pointus qui peuvent être obtenus auprès de pairs confirmés, autant que de besoin.

Ainsi formé, l'expérimentateur doit être détenteur d'une autorisation d'expérimenter délivrée par les services préfectoraux. Curieusement, cette autorisation est fondée sur l'aspect quantitatif des pièces à fournir (attestations des formations requises, casier judiciaire) et sur la déclaration des catégories de procédures envisagées par le demandeur. Contre toute attente, l'administration, alors que les formations peuvent donner accès à l'ensemble des gestes et des animaux vertébrés, procède à un inventaire minutieux des items pour n'accorder qu'une autorisation réduite, alors même que la réglementation indique que celle-ci peut être générale. Cette gestion quantitative est faite au détriment d'une gestion qualitative qui consisterait, par exemple, à vérifier les savoir-faire, et n'apporte pas de plus-value à la gestion de l'EA. On le voit donc, une fois encore, l'EA repose sur les expérimentateurs, non seulement pour assumer la responsabilité des gestes envers les animaux mais aussi pour concevoir les projets d'expériences.

Cinquième réflexion : la personne autorisée à expérimenter est-elle seule à décider ?

Clairement, la conception des projets ne repose pas entièrement sur la responsabilité du seul expérimentateur autorisé. En effet, les projets de recherche sont tous avalisés par les autorités qui décident des orientations scientifiques qui sont entreprises, aucun expérimentateur ne se trouve indépendant, en amont, d'un conseil scientifique, d'un conseil de direction ou d'un conseil d'administration. Comme, d'autre part, toutes les expérimentations ne peuvent être menées que dans des établissements d'EA agréés, il existe aussi une régulation, en aval, de la part des responsables de ces établissements.

Reste que la moralité des contraintes appliquées aux animaux demeure une préoccupation légitime que les expérimentateurs prennent en compte en effectuant une démarche éthique et en ayant une confrontation sincère avec un comité d'éthique pour s'assurer une sérénité morale individuelle.

L'administration pourrait-elle remplacer ces plans d'actions ? Pour la détermination des projets scientifiques, certainement pas, pour les choix de protocoles, elle ferait doublon, et pour l'éthique on voit mal comment le droit pourrait s'accaparer la morale.

Il semble donc, que si les 3 R jouent un rôle non négligeable dans la réflexion éthique, ils ne peuvent répondre à l'ensemble des préoccupations suscitées par l'EA et que, au-delà, il faut compter sur la qualité des hommes qui doivent assumer pleinement leurs responsabilités.

Sixième réflexion : quelle est la nature de cette responsabilité ?

Cette responsabilité, pour en revenir à des analogies économiques, ne doit pas être limitée à une simple aptitude d'action technique, mais doit s'inscrire dans une trilogie des 3 R, celle définie par Amartya Sen (Nobel 1998) et reprise par F.-R. Mahieu dans son ouvrage « Responsabilité et crises économiques », 2009. Cette séquence, « Responsabilité, Rationalité et Raisonabilité », implique que les choix qui incombent à la Responsabilité de l'individu doivent être discutés en toute liberté mais

avec objectivité et argumentation, et que cette Rationalité doit être mise à l'épreuve de la Raison collective pour recevoir une acceptation sociale avérée. On le voit, ce sont les ingrédients de la démarche éthique qui a été définie par le Comité national de réflexion éthique sur l'EA.

Ce corps de responsabilité individuelle doit fonctionner à l'intérieur des obligations réglementaires que la société a fixées, il doit permettre aux hommes d'avoir la tête haute et aux animaux d'être mieux protégés.

La société doit préserver ses hommes en leur accordant confiance plutôt que défiance, et le vœu est émis qu'elle veille à ne pas les réduire à des tâches d'exécution qui les exécuteraient définitivement, elle-même disparaissant ainsi. ■

Conclusion

Ce cycle de colloques sur les 3 R de Russell et Burch nous a permis d'en embrasser les différentes facettes et la complexité. Il est clair que la perception des devoirs qu'a l'être humain vis-à-vis des animaux qu'il utilise, a très nettement évolué au cours des cent dernières années. Depuis l'époque où il utilisait les animaux d'une façon parfois cruelle et inconséquente, une prise de conscience progressive l'a amené à considérer, dans son intérêt et celui de la société, l'animal d'une façon totalement différente. À ce titre, l'animal étant souvent utilisé comme modèle pour les maladies humaines, les prémices d'une éthique de l'expérimentation animale ont peu à peu été posées et mises progressivement en application. Cette application, attendue et souvent anticipée par les professionnels, et qui se traduit actuellement avec la transposition de la directive EU 2010/63, est maintenant incontournable.

Ces colloques nous ont permis d'aborder en détail les fondements sociétaux, philosophiques et éthiques de ces préoccupations, mais aussi très concrètement les bienfaits et les conséquences pratiques sur l'expérimentation passée et future. Deux messages primordiaux sont ressortis de ces colloques.

Le premier est que l'amélioration du bien-être, la prise en compte le plus finement possible de tous les besoins des animaux d'expérience ne pourra avoir que des impacts positifs sur la modélisation des maladies et de la thérapeutique humaines.

Le deuxième est que même si ces pratiques découlant des 3 R font de plus en plus l'objet de textes normatifs, toutes les situations concrètes ne sont pas prévisibles. De plus, il est apparu que des différences de perception existent dans les différents domaines scientifiques (et aussi encore, dans les différentes cultures). C'est pourquoi, la responsabilisation de tous les acteurs de l'expérimentation animale est à notre sens l'enjeu du futur. Cette responsabilité aura un impact autant dans la vie au jour le jour des animaux de laboratoire que sur la conception et la mise en place des protocoles. Ceci se concrétise d'ores et déjà par la structure de bien-être animal, du comité d'éthique, et du rôle central de l'établissement d'expérimentation animale.

La responsabilité de l'expérimentateur, ce fameux 4^e R, fera l'objet du prochain colloque de l'OPAL, **le 4 avril 2012** à la Maison de la Chimie.

Vous y êtes tous très cordialement conviés. ■



Directeur de la publication : Jean-Pierre Clot

Comité de rédaction : Jean-Pierre Clot, Philippe Delis, Patrick Gonin,
Evelyne Huguet, Jean-Pierre Rebière

RECHERCHE EXPÉRIMENTALE ET PROTECTION DE L'ANIMAL DE LABORATOIRE

28, rue Saint-Dominique, 75007 Paris

Adresse électronique : OPALassociation@aol.com