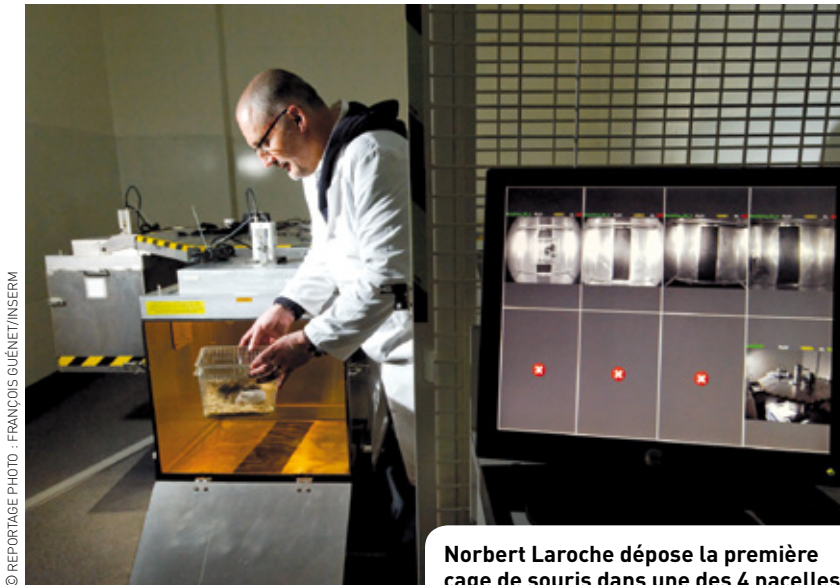
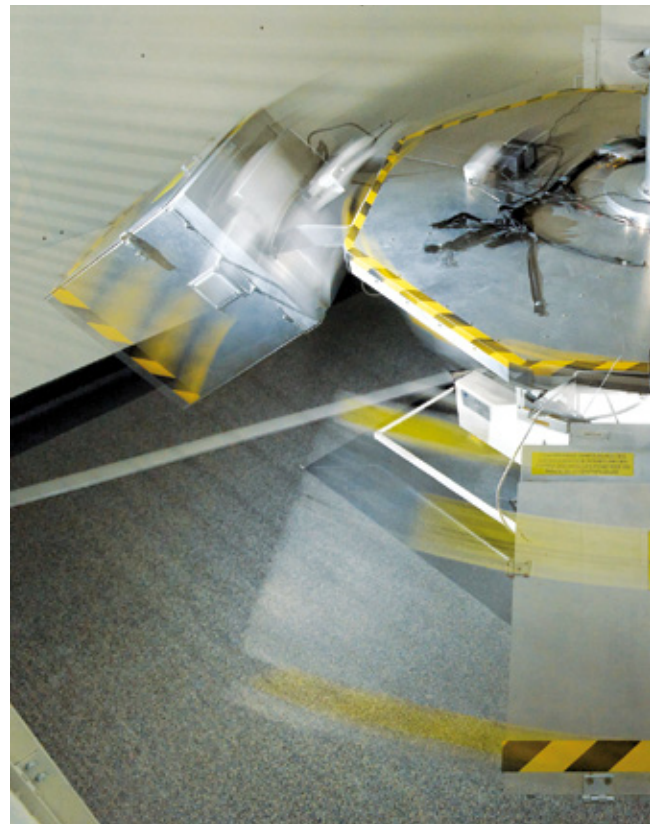


EFFETS GRAVITATIONNELS



© REPORTAGE PHOTO : FRANÇOIS GUÉNET/INSERM

Norbert Laroche dépose la première cage de souris dans une des 4 nacelles disposées symétriquement dans la centrifugeuse.



Des souris au service de nos os

Alors que le projet *Mars One* prévoit d'envoyer sur la planète rouge d'intrépides colons en 2025, le Laboratoire de biologie intégrative du tissu osseux fait, depuis peu, voler des souris en centrifugeuse. Avec un but : étudier les effets de l'hypergravité sur les os afin de prévenir les pertes de masse osseuse durant les voyages dans l'espace, de mieux réparer les fractures ou encore de mieux traiter l'ostéoporose. Plongée au cœur d'un lieu qui se préoccupe de notre squelette.

À Saint-Étienne, on fait tourner les souris. On ? Les membres du Laboratoire de biologie intégrative du tissu osseux (LBTO), situé au sud de la ville, sur le campus de la faculté de médecine. Comment ? Grâce à une plateforme conçue et construite par la société toulousaine COMAT pour le compte du Centre national des études spatiales (CNES). Depuis

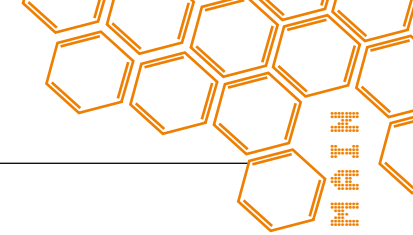
près d'un an, le LBTO, spécialisé dans l'étude des mécanismes de fragilité osseuse, en lien avec l'ostéoporose, a, en effet, été choisi pour accueillir cette centrifugeuse dédiée aux petits mammifères. L'intérêt ? Générer de l'hypergravité et étudier son effet sur les organes, dont le tissu osseux. L'hypergravité, c'est le phénomène où la gravité, G, est renforcée, ce qui se produit lors des phases d'accélération que subissent les astronautes et les pilotes de chasse au moment du décollage de leurs appareils. Sur Terre, par définition, en conditions normales, la gravité est égale à 1 G : quand elle passe à 2 G, le corps pèse deux fois plus lourd ; à 3 G, trois fois plus lourd...

Les effets de la gravité

C'est au détour d'un couloir, au 2^e étage, que l'on accède à la partie du laboratoire réservée à la plateforme d'expérimentation et d'analyse « Plexan ». Derrière une porte relativement banale, la centrifugeuse, d'un diamètre de 3,70 m, attend ses petits passagers à poils ras. Norbert Laroche (☛), responsable Histologie et recherche animale, les installe : deux souris par cage pour aujourd'hui, une cage par nacelle opposée. Une fois les portes refermées, il verrouille la grille de sécurité qui sépare la machine des tableaux de contrôle. Pour mettre la salle aux normes, l'équipe a dû faire poser des panneaux métalliques sur les murs. Au cas où les nacelles se décrocheraient...

Et c'est parti pour des tours de piste ! À 2 G, les nacelles tournent juste un peu plus vite qu'un manège pour

☛ Norbert Laroche, Laurence Vico :
unité 1059 Inserm - Université
Jean-Monnet-Saint-Étienne



La plateforme Plexan : en tournant à la vitesse de 29,5 tr/min, la centrifugeuse crée une force de gravité de 2 G. Elle peut aller jusqu'à 5 G.



Ghislaine Roux, gestionnaire de la plateforme, surveille le comportement des souris placées en hypergravité et filmées avec des caméras infrarouge.

enfants : on est loin de l'image de souris qui seraient collées à la paroi par la force centrifuge ! « Quand l'appareil se met en marche, les souris ont un temps d'adaptation où elles restent immobiles. Mais très vite, elles agissent normalement », fait remarquer Norbert Laroche. Comment l'équipe le sait-elle ? Grâce aux caméras à infrarouge qui équipent chaque nacelle. Au printemps dernier, pour la dernière manipulation d'envergure, par sa durée et le nombre de participants, le plus difficile a été de gérer un apport en eau et nourriture suffisant pour 48 souris pendant toute la durée de l'expérience : un mois ! C'est long... Mais c'est que l'expérience se veut l'exacte opposée de celle qu'ont vécue les souris embarquées à bord du vol spatial russe BionM1, en avril-mai 2013 : pendant un mois, 45 petits rongeurs ont parcouru l'espace, en état de microgravité. « Certes, assez peu d'entre elles sont revenues vivantes », déplorent les scientifiques. Mais le LBTO en a récupéré cinq ! Ainsi, l'adaptation physiologique correspondant aux deux situations opposées pourra être comparée. En microgravité, en effet, quand les voyageurs de l'espace flottent dans leurs habitacles spatiaux, c'est tout le système musculo-squelettique qui est altéré : « Le centre de gravité se déplace, le sang afflue vers la région céphalo-thoracique, donnant une sensation de visage bouffi... », décrit Laurence Vico (☛), la directrice du laboratoire. « Malgré les deux heures d'activité physique

“ Les astronautes présentent souvent des pertes osseuses à leur retour ”

qu'ils pratiquent, les astronautes présentent souvent des pertes osseuses à leur retour. Peut-on envisager l'hypergravité comme une contre-mesure, qui lutterait donc contre les conséquences néfastes de la microgravité ? », s'interrogent les chercheurs. Sans partir dans l'espace, l'hypergravité pourrait aussi être bénéfique pour la réparation des fractures, d'après les chercheurs de l'université de Samara, en Russie. Le niveau d'hypergravité et son temps d'application pourraient, à terme, être optimisés pour lutter contre l'ostéoporose en renforçant les os par une surcharge mécanique. Si les souris sont ici soumises à une force de 2 G, c'est que l'équipe a déjà fait de premières études de l'impact de l'augmentation de la gravité sur les souris. « À 2 G, il semble y avoir un renforcement musculaire et osseux, à 3 G, la baisse de mobilité induite entraîne des effets délétères avec perte de poids corporel et diminution de l'épaisseur des diaphyses (☛) osseuses. Quant à 4 G, c'est tout simplement traumatique », résume Norbert Laroche. L'une des questions qui guident leurs travaux concerne la gradation des effets : existe-t-il des seuils dans les niveaux de G où certaines conséquences apparaissent ou au contraire s'agit-il

☛ Diaphyse

Partie médiane d'un os long



Laurence Vico
directrice du LBTO

© REPORTAGE PHOTO - FRANÇOIS GUÉNIN/INSERM



Les souris, soumises au plateau vibrant, type Powerplate, explorent leur environnement.



© REPORTAGE PHOTO : FRANÇOIS GUÉNÉTI/INSERM

d'un continuum ? « D'un point de vue plus fondamental, ajoute Laurence Vico, l'hypergravité est un des derniers paramètres physiques qu'il reste à étudier, puisque l'on connaît les effets du pH, de l'altitude, de la température... ».

De bonnes vibrations

Mais l'hypergravité ne se rencontre pas que lors des décollages. On la trouve même sur des machines surprenantes. De l'autre côté du mur du laboratoire, on s'intéresse à l'hypergravité intermittente : des souris s'étaient au « Powerplate spécial murin ». Après avoir envahi les salles de gym, ces machines vibrantes ont peu à peu investi les cabinets de kinésithérapeutes et les pôles de gériatrie. Car elles pourraient avoir un impact sur la prévention de l'ostéoporose. Ce que l'étude clinique VibrOs, débutée en 2010, cherche à démontrer. Elle concerne 240 femmes ménopausées, âgées de 55 à 75 ans et sédentaires. Le dernier critère à respecter : présenter une fragilité osseuse sans pour autant que l'ostéoporose soit déclarée. « Pendant un an, les participantes sont venues deux à trois fois par semaine, pour une séance de Powerplate de 20 minutes. Les postures étaient tout à fait contrôlées », rassure Laurence Vico. Au début de l'étude, puis à 6, 12 et 18 mois, différents paramètres étaient mesurés : tissu osseux, force musculaire, dosage des marqueurs sériques... tout ce qui peut renseigner sur le métabolisme osseux et musculaire. Résultats préliminaires : les participantes n'avaient pas perdu d'os et avaient gagné en force musculaire. Un résultat d'autant plus visible à six mois. Ainsi, les chercheurs continuent l'exploration des bienfaits potentiels de ces vibrations, sur les rongeurs. Pour

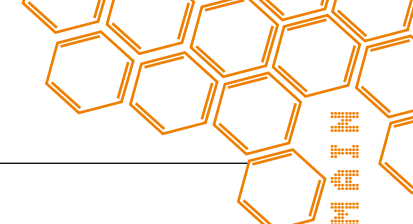
eux, il s'agit d'une séance d'un quart d'heure par jour : posés précautionneusement sur leur plot vibrant, « les rats ont tendance à se coucher tête-bêche. Quant aux souris, elles vaquent à leurs occupations », remarque Norbert Laroche.

« Pendant un an, 240 femmes ménopausées sont venues pour des séances de Powerplate, »

Ce matériel industriel détourné permet de faire varier la fréquence. Malgré les effets bénéfiques trouvés chez l'homme, les premiers résultats sur les rongeurs ont montré que lorsque la fréquence de vibration entre en résonance



Virginie Dumas vérifie sur l'écran d'oscilloscope que la force enregistrée au niveau des chambres de culture correspond à celle appliquée par le déplacement des pistons.



avec les segments osseux, les effets sont délétères et entraînent une augmentation de la résorption osseuse ainsi qu'un défaut de minéralisation de l'os nouvellement formé. Laurence Vico avance une hypothèse : « Il se pourrait que lorsque l'os est trop stimulé, les ostéoblastes, les cellules qui assurent la formation du tissu osseux, sécrètent une matrice de collagène qui se minéralise peu, comme pour se protéger. » Ce qui induit une fragilité osseuse. À l'inverse, des fréquences élevées de l'ordre de 90 Hz sont, quant à elles, favorables à la formation du tissu osseux. « Il faudra donc être capable de déterminer les plages fréquentielles et les accélérations bénéfiques sur le corps humain afin d'utiliser les plateformes vibrantes pour délivrer des stimuli mécaniques dans des populations qui ne font pas d'exercice physique, fragiles et sédentaires. »

Des modèles 3D

Grâce aux équipements d'imagerie haute technologie que le laboratoire héberge, les chercheurs sont à même de faire des observations très précises. « À l'aide du microscanner, nous pouvons étudier l'architecture osseuse sur des rongeurs vivants », précise Norbert Laroche. Leurs études les poussent cependant à faire aussi appel au rayonnement synchrotron de Grenoble pour étudier le réseau des ostéocytes en nanotomographie [9]*, une technique de pointe qui permet d'« entrer » au cœur du tissu osseux. Ces études sur les modèles animaux permettent d'analyser les effets des contraintes mécaniques dans toute la



À gauche : écran du densitomètre petit animal affichant 4 pattes de souris *ex-vivo* ; au premier plan : poste d'anesthésie à l'isoflurane pour endormir les animaux avant analyse en microtomographie (en arrière-plan)

“ Les cultures cellulaires se font avec des matrices artificielles, »

complexité d'un environnement physiologique. Cependant, elles restent aussi limitées par des

considérations éthiques et par la lourdeur des expérimentations. Aussi, le labo s'attelle à créer des modèles complexes de cultures cellulaires tridimensionnelles. Ainsi, la pièce d'à côté regroupe de nombreux équipements, à la frontière entre biologie et mécanique, appartenant à la plateforme Ingénierie et vieillissement des tissus vivants (IVTV). Aux manettes : sa responsable, Virginie Dumas (☞). « D'ordinaire les cultures cellulaires se font en boîte de Petri. Ici, nous avons recours à des matrices artificielles en 3D, comme l'hydroxyapatite, un minéral qui mime l'architecture osseuse », explique-t-elle. L'objectif de cet axe de recherche ? Développer un système de co-culture 3D, reproduisant les facteurs clés de l'environnement *in vivo*, dans un milieu dynamique et contrôlé mécaniquement. Pour cela, la jeune femme manipule avec précaution un bioréacteur, un dispositif constitué de quatre chambres perfusées avec un milieu de culture. En appliquant ensuite différents stimuli biomécaniques, flux et compression, on analyse cette fois, à une échelle plus fine, au niveau cellulaire et moléculaire, les effets des contraintes mécaniques. Avec son large spectre de recherches, qui va des modèles complexes de cultures cellulaires 3D jusqu'à

l'expérimentation sur l'animal, le labo stéphanois semble le mieux placé pour décrypter les énigmes de la perte et de la formation des os, la charpente de notre corps. Sur Terre comme dans l'espace. ■

Julie Coquart

🔍 Nanotomographie

Imagerie en 3D à l'échelle nanométrique



© REPORTAGE PHOTO : FRANCOIS GUENET/INSERM

Matrices en os cortical poli, titane ou hydroxyapatite pour tester en 3D différents environnements de culture cellulaire

* Voir S&S n°18, Grand Angle « Imagerie médicale : une [r]évolution continue », p. 22-33

☞ Virginie Dumas : unité 1059 Inserm - Université Jean-Monnet-Saint-Étienne