

protéine *reporter* détectable. Les produits d'un noyau (ARN ou protéine) diffusent donc, mais sur une distance limitée que l'on peut évaluer avec une assez bonne précision.

Ces études permettent d'interpréter les observations faites chez les femmes hétérozygotes pour la myopathie de Duchenne, qui peuvent présenter des symptômes cliniques et biologiques, bien que leurs cellules musculaires soient comparables à des hétérocaryons naturels dans lesquels on pourrait s'attendre à une complémentarité tant biochimique que fonctionnelle [2]. La dystrophine, synthétisée par une partie seulement des noyaux, ne diffuse probablement pas dans l'ensemble [4, 5].

J.C.D.

1. Fontaine B, Sassoon D, Buckingham M, Changeux JP. Detection of the nicotinic ACh receptor α -subunit mRNA by *in situ* hybridization at neuromuscular junction of 15-day old chick striated muscle. *EMBO J* 1988 ; 7 : 603-9.

2. Pavlath GK, Rich K, Webster SG, Blau HM. Localization of muscle genes in muscular domains. *Nature* 1989 ; 337 : 570-3.

3. Ralston E, Hall ZW. Transfert of a protein encoded by a single nucleus to nearby nuclei in multinucleated myotubes. *Science* 1989 ; 244 : 1066-9.

4. Arahata K, Ishihara T, Kamakura K, et al. Mosaic expression of dystrophin in symptomatic carriers of Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1989 ; 320 : 138-42.

5. Hurko O, Johns DR. Dystrophin and Duchenne's dystrophy. *N Engl J Med* 1989 ; 321 : 398.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ Un porteur non myopathe du gène de la maladie de Duchenne de sexe masculin. Dans une famille néerlandaise à risque pour la maladie de Duchenne, la recherche des transmettrices a inclus dans l'enquête un homme qui fut trouvé posséder les marqueurs des deux chromosomes X maternels, y compris celui qui était connu comme lié à la maladie. A cette occasion furent découverts, et un caryotype 47 XXY, et l'ensemble du phénotype d'un syndrome de Klinefelter méconnu auparavant. Il s'agit donc du premier porteur masculin décrit de la maladie de Duchenne, porteur mais non

transmetteur puisque les sujets atteints du syndrome de Klinefelter sont stériles.

[Hennekam RCM. *Am J Hum Genet* 1989 ; 44 : 591-2.]

■■■■ Des facteurs psychologiques peuvent-ils moduler l'activité synaptique dans le cerveau ?

Il est évidemment très difficile de le démontrer en raison de la nécessité, pour ce faire, d'une double étude combinée du comportement de l'animal et de l'activité électrophysiologique de ses synapses. L'interprétation des résultats, dans ces deux types d'analyse dépend de nombreux paramètres d'où l'extraction des facteurs « strictement psychologiques » est pour le moins complexe. Afin de travailler sur des facteurs psychologiques suffisamment discrets, Shors *et al.* [1] ont appliqué de façon répétée des chocs électriques sur les pattes de rats en différenciant deux groupes d'animaux, ceux qui avaient la possibilité d'échapper aux chocs, et ceux qui ne le pouvaient pas. Après une semaine de ces traitements, les animaux ont été sacrifiés et l'activité synaptique étudiée en enregistrant des neurones dans des tranches d'hippocampe. Certains neurones de cette structure présentent normalement une « potentiation à long terme » (*long term potentiation*, LTP) : le nombre de potentiels d'action émis en réponse à une stimulation est, durant une longue période, très augmenté à la suite de l'application d'une stimulation répétée dite conditionnante. Ce phénomène est considéré comme un modèle de « plasticité » synaptique dans le cerveau. La LTP est modifiée — réduite — par des facteurs très divers, endocriniens, immunologiques, biochimiques, etc. Shors *et al.* ont observé que l'application répétée de chocs électriques sur les pattes supprimait totalement la LTP lorsque, et seulement lorsque, l'animal n'avait pas le moyen d'y échapper. Tous les contrôles biologiques étant équivalents, les rats placés dans les conditions d'un choc évitable ne présentaient pas cette

suppression. Il existerait donc une modulation de la LTP par des facteurs psychologiques liés à l'inévitabilité du choc. L'activité cérébrale sous l'influence de la psychologie ! Les électrophysiologistes font peut-être leurs premiers pas dans un domaine où les psychologues (et « monsieur-tout-le-monde ») les attendaient depuis longtemps !

[1. Shors TJ, *et al. Science* 1989 ; 244 : 224-6.]

■■■■ Le réticulum endoplasmique joue-t-il un rôle dans le transport des protéines nucléaires ?

Les protéines que l'on trouve dans le noyau des cellules sont synthétisées dans le cytoplasme sur des polyribosomes libres. On sait que ces protéines contiennent une séquence d'une dizaine d'acides aminés (le signal caryophile) qui est nécessaire à leur migration du cytoplasme dans le noyau. L'injection dans le cytoplasme de protéines caryophiles marquées avec des particules d'or montre qu'elles s'accumulent au niveau des pores nucléaires avant de pénétrer dans le nucléoplasme. Le groupe de W. Verly, à l'université de Liège (Belgique), s'intéresse depuis longtemps à une enzyme, l'AP-endonucléase, qui intervient dans la réparation de l'ADN et qui est localisée principalement dans la chromatine. Après sa synthèse, cette enzyme se lie à des récepteurs situés sur la face cytoplasmique des membranes du réticulum endoplasmique. Un peptide reproduisant le signal caryophile de l'antigène T de SV-40, une protéine nucléaire très étudiée, déplace très efficacement l'AP-endonucléase liée au réticulum endoplasmique. Il semble par conséquent que les membranes du réticulum endoplasmique possèdent, sur leur face externe, des récepteurs capables de lier des protéines nucléaires par leur signal caryophile ; ce pourrait être là la première étape du transport de ces protéines vers le noyau.

[Verly WG, *et al. Biochim Biophys Acta* 1989 (sous presse).]

■■■ **Resynchronisation des rythmes circadiens par une lumière vive.**

Dans des conditions de vie normale, les rythmes biologiques internes (modifications de température centrale, de sécrétion de cortisol, etc.) sont adaptés au rythme nycthéral et au cycle éveil-sommeil. Tel n'est pas le cas dans différentes circonstances, parmi lesquelles le changement rapide de fuseau horaire (*jet lag*), le travail en équipes changeant régulièrement de tranche horaire d'activité, etc. Dans tous ces cas, les rythmes biologiques internes présentent une inertie importante qui conduit donc à une désynchronisation avec les périodes imposées d'activité et de repos, d'où s'ensuivent des troubles du sommeil et des altérations des performances psychomotrices. Une très importante étude d'équipes américaines de Boston et Cambridge (Harvard University, MA, USA) vient de démontrer que l'exposition durant une période de quelques heures pendant quelques jours de suite (trois en général) à une lumière très vive, équivalente à celle d'une journée ensoleillée, resynchronisait les rythmes biologiques à condition de bien établir la période à laquelle ce traitement doit être appliqué [1]. Par exemple, imaginons un voyage de France vers la côte pacifique des États-Unis ou du Canada (décalage horaire : neuf heures). A 19 heures, le voyageur venant de sortir de l'avion aura des constantes biologiques dépendantes du cycle nycthéral correspondant à 3 heures du matin alors qu'à 3 heures du matin de la nouvelle heure, son horloge biologique interne indiquera midi ! Si ce voyageur s'expose à une lumière vive (la plage par temps ensoleillé) plusieurs fois d'après-midi de suite, il va faire avancer son horloge interne, l'amenant à coïncider au nouveau fuseau horaire. Ces données devraient avoir également d'intéressants prolongements dans certains troubles spontanés du sommeil. Elles indiquent qu'un réflexe rétino-hypothalamique (ou bien impliquant la glande pinéale) joue un rôle essentiel dans

le réglage de l'oscillateur interne contrôlant les rythmes biologiques circadiens.

[1. Czeisler CA, *et al. Science* 1989 ; 244 : 1328-33.]

■■■ **Une voie thérapeutique pour la dystrophie de Duchenne ?**

Les glucocorticoïdes semblent améliorer la fonction musculaire de patients atteints de myopathie de Duchenne. C'est ce que vient de montrer une étude américaine portant sur trois groupes homogènes d'une trentaine de malades dont l'un reçoit un placebo, le second 0,75 mg/kg/j de prednisone et le dernier 1,5 mg/kg/j de la même molécule. Cette étude en double aveugle, d'une durée totale de six mois, met en évidence une amélioration significative ($p < 0,0001$), dans les deux groupes traités par prednisone, de différents paramètres cliniques (exploration fonctionnelle et force musculaires et, dans une moindre mesure, fonction respiratoire) ainsi qu'une augmentation significative de la créatinine urinaire (à mettre probablement en relation avec une augmentation de la masse musculaire totale). Aucune différence statistiquement significative n'est notée entre les deux groupes recevant des posologies différentes. L'apparition des effets semble précoce dès le premier mois après le début du traitement, mais ceux-ci se stabilisent entre trois et six mois. Seule l'importance des contractures ne semble pas être modifiée par l'apport de corticoïdes. Si cette étude paraît encourageante, reste à faire face aux effets secondaires bien connus d'une corticothérapie au long cours, à confirmer l'effet d'un traitement prolongé et surtout à comprendre les mécanismes d'action de cette thérapeutique potentielle. Différents niveaux d'action peuvent d'emblée être suggérés : médiation anti-inflammatoire, protection membranaire accrue, stimulation de la régénération ou de la différenciation musculaire, rôle transcriptionnel dans le contrôle de l'expression de la dystrophine. Certains travaux rapportés récemment au congrès portant sur la

dystrophine, à Cold Spring Harbor, font état d'une augmentation de l'expression de la dystrophine endogène dans une culture de cellules musculaires (*ex vivo*) lorsque des glucocorticoïdes sont ajoutés au milieu de culture ; autant d'arguments favorisant les dernières hypothèses et qui demandent à être confirmés.

[Mendell JR, *et al. N Engl J Med* 1989 ; 320 : 1592-7.]

■■■ **Clonage d'ADN complémentaires codant pour des récepteurs de l'érythropoïétine.**

Alan D. D'Andrea et ses collaborateurs du *Whitehead institute* (MIT, Cambridge, MA, USA) viennent de parvenir à isoler des clones d'ADNc codant pour des récepteurs à haute et à basse affinité d'érythropoïétine [1]. Pour parvenir à ce résultat, les auteurs commencèrent par construire une banque d'expression d'ADNc de cellules érythroleucémiques murines (qui contiennent environ un millier de récepteurs au niveau de leur membrane). 200 000 clones furent divisés en *pools* de 1 000 dont les ADNc furent transférés dans des cellules de mammifères COS. Le test biologique a consisté en la mesure de la consommation d'érythropoïétine iodée par les cellules transfectées. Deux *pools* positifs sur 1 000 furent obtenus. Par subdivisions successives, ils menèrent aux clones contenant les ADNc de récepteurs de l'érythropoïétine. Les deux types d'ADNc obtenus se révèlent très voisins, ne différant que par leurs régions 5'. La séquence protéique déduite permet de prévoir que le récepteur de l'érythropoïétine est une molécule de 55 kDa, comportant une grande région carboxy-terminale intracytoplasmique (de 234 acides aminés) et une région amino-terminale séparées par une courte hélice intramembranaire. Le récepteur est probablement glycosylé, ce qui peut expliquer que le poids moléculaire mesuré soit de 85 000 à 100 000. Les deux espèces d'ADNc clonées commandent la co-expression par les cellules transfectées des deux types de récepteur, à haute et à basse affinité, dont l'ori-

■■■ Le développement des relations synaptiques dans le système nerveux central dépend de l'activité électrique des voies afférentes suivant un modèle qui pourrait être plus complexe que ce que l'on envisageait jusqu'à présent. Les études réalisées, au niveau des cellules synaptiques, impliquées dans la vision, en particulier, ont montré que l'organisation synaptique peut subir d'importantes altérations en réponse à des privations sensorielles ou à des suppressions induites expérimentalement de l'activité électrique dans les circuits afférents. Les données recueillies permettent de conclure qu'une compétition existe entre différents systèmes afférents contactant les mêmes neurones, et l'on pensait généralement que cette compétition conduisait à l'élimination des voies les moins employées. Une étude réalisée sur des neurones en culture [1] indique que l'effet de l'activité électrique sur l'établissement des contacts synaptiques est sans doute plus complexe. Dans cette étude, des neurones de la moelle épinière ont été placés au centre d'une boîte de culture tri-zone (formée de trois zones séparées par des barrières permettant aux prolongements, mais pas aux corps cellulaires, de passer). Des neurones ganglionnaires sensoriels — qui contactent normalement les neurones médullaires — ont été cultivés dans les deux zones périphériques. Les neurones situés dans une des zones périphériques ont été stimulés électriquement alors que ceux situés de l'autre côté ne l'étaient pas. L'efficacité et le nombre des contacts obtenus ont ensuite été étudiés par enregistrement électrophysiologique des neurones médullaires cibles de la zone médiane. Conformément à ce que l'on savait, le traitement a provoqué un accroissement significatif de l'amplitude de la réponse électrique induite par stimulation du côté traité par rapport tant au témoin — culture avec deux zones périphériques non stimulées — qu'au côté opposé non stimulé. Cet accroissement n'est cependant pas dû à une élimination d'afférences provenant

des neurones du côté non stimulé. Par rapport au témoin, le nombre d'afférences augmente en effet significativement du côté stimulé, mais c'est aussi le cas du côté non stimulé qui profite ainsi indirectement de l'activité électrique post-synaptique induite par la stimulation de l'autre série d'afférences. La compétition semble donc ne pas conduire à l'élimination des voies afférentes non privilégiées, comme on en faisait l'hypothèse jusqu'à présent. La résultante de la compétition sur le développement du système nerveux est pourtant inchangée, car un tel mécanisme adaptatif conduit à favoriser le circuit ayant la plus grande activité par rapport aux autres. [1. Nelson PG, *et al. Science* 1989 ; 244 : 585-7.]

■■■ Une nouvelle sous-unité dans le récepteur GABA_A contient un site de liaison des benzodiazépines. L'acide γ -aminobutyrique (GABA) est un neurotransmetteur pratiquement ubiquitaire dans le système nerveux central, dans lequel son effet est le plus généralement inhibiteur. Son action s'effectue pour l'essentiel par l'ouverture d'un canal Cl⁻ au niveau d'un complexe-récepteur dit GABA_A. On avait jusqu'à présent isolé deux sous-unités de ce récepteur, α et β , dont la coexpression dans des modèles cellulaires produit un complexe-récepteur qui possède nombre des activités pharmacologiques de GABA_A. Une propriété majeure de ce récepteur manquait cependant, lors de la coexpression des deux sous-unités : la sensibilité aux benzodiazépines. Le complexe-récepteur GABA_A physiologique possède en effet un site de liaison aux benzodiazépines qui module l'ouverture du canal Cl⁻. Peter Seeburg *et al.*, de l'université de Heidelberg (RFA) apportent la solution de ce problème sous la forme d'une troisième sous-unité du complexe-récepteur, $\gamma 2$ [1]. Cette sous-unité, caractérisée à partir d'une banque d'ADNc humains, est produite dans l'ensemble du système nerveux central, au niveau des neu-

rones possédant un récepteur GABA_A. Des expériences de coexpression des trois sous-unités connues permettent de penser qu'elles forment effectivement les éléments majeurs du complexe-récepteur. La coexpression des trois sous-unités produit un récepteur dont les propriétés pharmacologiques correspondent à celles de GABA_A alors que l'expression de $\gamma 2$ seule n'en présente aucune et que sa coexpression avec α ou β ne modifie pas les propriétés des récepteurs formés par ces dernières lorsqu'elles s'expriment isolément. Nul doute que l'identification et le clonage du site de liaison des benzodiazépines de GABA_A aura des retombées importantes pour la recherche pharmaceutiques et, à terme, pour la thérapeutique.

[1. Pritchett DB, *et al. Nature* 1989 ; 338 : 582-5.]

■■■ Effet antitumoral de l'interleukine-4 (IL-4). Le groupe de P. Leder (Harvard medical school, Boston, MA, USA) teste systématiquement l'effet antitumoral potentiel des interleukines par une technique originale : des lignées tumorales en culture sont transfectées par un vecteur d'expression de l'interleukine étudiée, puis ces cellules, seules ou mélangées à des cellules tumorales non transfectées et de types variés, sont implantées dans la souris immunodéficiente *nude*. Cette méthode est d'utilisation plus générale que la simple injection d'interleukine purifiée à des animaux porteurs de tumeur car, dans ce cas, la très courte durée de vie du produit empêche souvent d'obtenir les concentrations locales nécessaires à la mise en évidence d'un effet spécifique. Lorsque cette expérience est réalisée avec l'interleukine-4 (IL-4), non seulement les cellules transfectées ne donnent pas de tumeur après greffe à la souris *nude*, mais encore elles inhibent la tumorigénicité de cellules transformées d'origines diverses, co-injectées avec les cellules synthétisant IL-4. Il existe, au site de

■■■ BRÈVES ■■■

l'effet antitumoral, un infiltrat cellulaire constitué de polynucléaires éosinophiles et de macrophages [1]. IL-4 est produite par des lymphocytes auxiliaires et a des activités variées, sur les lymphocytes T et B, la commutation de classe des gènes d'immunoglobulines, les mastocytes, les lignées hématopoïétiques, etc. Son effet antitumoral ne semble pas comporter l'activation de lymphocytes cytotoxiques, mais plutôt de macrophages et, peut-être, d'éosinophiles, éventuellement *via* une cascade de cytokines comportant IL-1 et TNF (*tumor necrosis factor*).

[1. Tepper RI, *et al. Cell* 1989 ; 57 : 503-12.]

■■■ Des cas d'amélioration spontanée d'hémophilie B due à une anomalie de la zone promotrice. Plusieurs exemples de guérison spontanée apparente d'hémophilie B existent dans la littérature. On en connaît au moins quatre, depuis le cas familial décrit aux Pays-Bas sous le nom d'hémophilie B Leyden [1] jusqu'à ceux, tout récents, d'un Américain d'origine arménienne [2], d'un Grec [2] et enfin d'un Britannique [3]. Chaque fois, un syndrome hémorragique de gravité moyenne disparaissait après la puberté. L'analyse de l'ADN a montré une lésion moléculaire dans une zone très précise de la région du promoteur : l'hémophilie B Leyden a une mutation T → A en position -20 par rapport au point de départ de la transcription ; chez les trois autres malades, l'anomalie est localisée en une même position +13 : mutation A → G chez les sujets américain et britannique, délétion d'une paire de bases chez le malade grec. L'hypothèse la plus vraisemblable pour expliquer ces observations est celle d'une stimulation par les androgènes, compensant une mutation du promoteur dont la conséquence est de diminuer l'activité transcriptionnelle de base. Ces observations montrent qu'une lésion moléculaire portant sur la région

promotrice, peut, dans certains cas, être compensée. Elles suggèrent que ce phénomène pourrait être mis à profit pour des tentatives thérapeutiques dans d'autres maladies moléculaires relevant, elles aussi, d'atteintes du promoteur.

[1. Briet E, *et al. N Engl J Med* 1982 ; 306 : 788-90.]

[2. Reitsma PH, *et al. Blood* 1989 ; 73 : 743-6.]

[3. Crossley PM, *et al. Lancet* 1989 ; i : 960.]

■■■ Une amélioration des techniques de biotechnologie dans la levure : hyperexpression de protéines de fusion avec l'ubiquitine. La levure est une cellule eucaryote qui a beaucoup d'avantages sur *E. coli* lorsqu'il s'agit de produire par recombinaison génétique des substances d'intérêt biologique : l'un de ces avantages est l'aptitude de la levure à produire, sous une forme active, des protéines que la cellule procaryote synthétise sous une forme inactive. La production de protéines recombinantes dans la levure est cependant souvent plus faible que dans *E. coli*. L'un des moyens souvent utilisés chez les procaryotes pour parvenir à l'hyperexpression de protéines étrangères est de les faire synthétiser sous la forme de molécules hybrides, par exemple avec l'enzyme bactérienne β -galactosidase. Une semblable approche a été choisie par des équipes américaines de Pennsylvanie [1] qui ont montré que, dans la levure, le fait de produire une protéine sous la forme d'une molécule de fusion avec l'ubiquitine augmente 400 fois l'accumulation de la protéine étudiée. Celle-ci est libérée de sa partie ubiquitine par une protéase cellulaire spécifique. La séquence d'ubiquitine pourrait agir sur la traduction du messenger ou sur la stabilité de la protéine.

[1. Ecker DJ, *et al. J Biol Chem* 1989 ; 264 : 7715-19.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ La kétamine est-elle neurotoxique? On espérait beaucoup de la PCP et des substances pharmacologiquement proches comme le MK801 ou la kétamine — qui est par ailleurs utilisée dans certaines formes d'anesthésie chez l'homme — dans le traitement préventif de maladies neurodégénératives. La PCP (phencyclidine) et ses analogues bloquent en effet l'action du glutamate au niveau du récepteur de type NMDA en se fixant sur un récepteur voisin (qui est peut-être un récepteur à la glycine). *m/s* a déjà présenté ce récepteur NMDA dont le rôle est sans doute majeur dans les phénomènes de mémorisation cellulaire. Le même canal-récepteur a été mis en cause dans certains mécanismes excitotoxiques dans lesquels sont impliqués le glutamate et des analogues tels que les acides kaïnique ou quinolinique. Cette excitotoxicité pourrait être à l'origine d'affections nerveuses très diverses, depuis l'épilepsie jusqu'à la chorée de Huntington en passant par les conséquences de l'hypoglycémie et la sclérose latérale amyotrophique. Au vu de cette liste, on comprend l'intérêt suscité par la découverte de l'action pharmacologique de la PCP et de sa famille. L'enthousiasme est cependant vite retombé devant les effets désastreux de la PCP et des analogues qui entraînent de graves troubles psychi-

ques dissociatifs reproduisant, à une certaine dose, ceux de la schizophrénie [1]. John Olney (université Washington de Saint-Louis, USA) apporte aujourd'hui un élément [2] qui va sans doute détruire tout reste d'espoir en démontrant que l'injection de PCP, de MK801, mais aussi de kétamine, produit une atteinte cytologique massive de neurones situés dans les régions cingulaire et rétrospléniale du cortex cérébral. Les neurones se remplissent de larges vacuoles quelques heures seulement après l'injection de la drogue, et leur devenir reste encore inconnu. Si le MK801 n'est utilisé qu'en recherche, la PCP, elle, est une drogue appréciée des toxicomanes qui risquent ainsi des lésions importantes — et peut-être définitives — de certaines régions du cortex cérébral. En ce qui concerne la kétamine, un problème pourrait se poser pour les anesthésistes qui utilisent notamment ses activités psychodysléptiques dans les procédures de neuroleptanalgie. On ne devrait pourtant pas, d'après Olney *et al.*, craindre trop d'effets directs, en raison des doses très modestes utilisées généralement chez l'homme.

[1. Snyder SH. *Nature* 1980 ; 285 : 355-7.]

[2. Olney JW, *et al.* *Science* 1989 ; 244 : 1360-2.]

FLASH

UN TRAITEMENT PRÉVENTIF CONTRE LA MALADIE DE PARKINSON ? Le rôle de la monoamine oxydase B dans la mort des neurones dopaminergiques avait été suggéré par les recherches sur l'action d'un agent neurotoxique, le MPTP. Tetrud et Langston (*Science* 1989 ; 245 : 519-21) annoncent aujourd'hui que le blocage de l'activité de cette enzyme par le Déprényl (*Somerset Pha. Labs*) a ralenti de façon significative le développement de la maladie chez 54 malades suivis pendant trois ans. Il s'agit d'un espoir de prévention non seulement pour la maladie de Parkinson, mais aussi pour plusieurs autres affections neurodégénératives dans lesquelles la mort neuronale pourrait dépendre de mécanismes voisins.