

phénomènes utiles (liaison ligand-récepteur, activation des flux ioniques) mais plus directement au niveau des conséquences pathologiques de l'hyperactivation. On parle alors d'antagonisme dépendant de l'abus du récepteur [4]. Il semble que le GM-1 puisse être un de ces moyens thérapeutiques idéaux correspondant à l'hypothèse RADA : il contrecarrerait la dérégulation de la concentration intracellulaire de calcium et, peut-être surtout, s'opposerait à la translocation de la PKC [5]. L'étude de modèles expérimentaux d'excitotoxicité chez le rat ont confirmé une certaine efficacité du GM-1 à réduire les concentrations de calcium dans les zones lésionnelles [6]. Geisler *et al.* apportent aujourd'hui les premiers résultats cliniques directement liés à l'hypothèse RADA, même si les gangliosides (et même le GM-1 isolé) sont utilisés à des fins thérapeutiques depuis de nombreuses années. L'étude présentée porte sur 34 patients ayant subi un traumatisme cervical ou thoracique entraînant une incapacité motrice majeure des étages sous-jacents. Les malades ont été mis sous traitement GM-1 (100 mg i.v./jour, 18 à 32 jours) dans les trois premiers jours suivant l'accident et suivis pendant un an à l'aide des échelles testant les fonctions sensibles et motrices déjà utilisées lors de NASCIS 2 (voir *m/s* n° 9, vol. 6, p. 916). La comparaison statistique entre groupe GM-1 et groupe placebo dégage un résultat statistiquement significatif, quoique la significativité n'atteigne que des valeurs limites à $P < 0,05$ malgré le choix de tests appropriés.

Ce résultat est encourageant, mais cela conduit à regretter encore davantage son caractère limité et, de fait, préliminaire. On sait que la variabilité de la récupération fonctionnelle est extrême chez ces patients et que leur situation évolue grandement au cours du temps. Si un patient peut récupérer spontanément entre 0 et 3 points sur l'échelle de Frankel, qui en compte 5, la signification d'une différence de moins de 1 point en moyenne entre deux groupes ne peut être assise que sur un nombre extrêmement grand de cas. L'étude NASCIS 2 concernait plus

de 450 patients, répartis en trois groupes (+ MPS, + placebo mais aussi + naloxone), ce qui n'empêchait pas les résultats d'être discutés et d'être, du moins partiellement, non satisfaisants malgré une tendance appréciable. L'étude de Geisler *et al.* paraît avoir été réalisée avec le sérieux nécessaire, mais le petit nombre de patients concernés (34 en tout) rend très apparentes certaines difficultés du traitement statistique. L'éditorialiste du *New England* [7] souligne, par exemple, que l'analyse fait abstraction d'une différence non négligeable en ce qui concerne les niveaux de base des deux groupes. Les conclusions à tirer de ce travail ne sont donc, malheureusement, pas tout à fait à la hauteur des espoirs qu'il suscite. La publication de Geisler *et al.* nous met à la croisée des chemins plus que sur la voie d'une thérapeutique de routine : au moment où chacun attend la preuve d'un effet majeur du GM-1, que l'expérimentation animale a annoncé, elle n'apporte qu'un résultat encourageant mais trop parcellaire pour être déterminant.

B. O.
M. P.

1. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, *et al.* A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury : results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 1405-11.
2. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal-cord injury — a randomized placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 1991 ; 324 : 1829-38.
3. Favaron M, Manev H, Albo H, *et al.* Gangliosides prevent glutamate and kainate neurotoxicity in primary neuronal cultures of neonatal rat cerebellum and cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 7351-5.
4. Manev H, Favaron M, Vicini S, *et al.* Glutamate-induced neuronal death in primary cultures of cerebellar granule cells : protection by synthetic derivatives of endogenous sphingolipids. *J Pharmacol Exp Ther* 1990 ; 252 : 419-27.
5. Vaccarino F, Guidotti A, Costa E. Ganglioside inhibition of glutamate-mediated protein kinase C translocation in primary cultures of cerebellar neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 8707-11.
6. Karpiak SE, Mahadik SP. Gangliosides and ischemic injury. *CRC Crit Rev Neurobiol* 1990 ; 5 : 221-37.
7. Walker M. Acute spinal-cord injury. *N Engl J Med* 1991 ; 324 : 1885-7.

■■■ L'hyperméthylation du site modifié dans le syndrome de l'X fragile entraîne l'inactivation du gène adjacent. Dans une nouvelle récente, François Rousseau, du laboratoire de Jean-Louis Mandel (Strasbourg, France) rapportait le clonage d'un gène dont le premier exon contenait la répétition du trinucleotide CGG qui est amplifié et hyperméthylé chez les sujets atteints du syndrome de l'X fragile. Deux hypothèses étaient alors présentées : selon l'une d'entre elles, cette modification entraînait l'accumulation d'un message non fonctionnel, qu'il soit instable, non traductible ou qu'il code pour une protéine inactive. Selon l'autre hypothèse, l'existence d'un site hyperméthylé au niveau de cette région amplifiée devait entraîner une inactivation de ce gène, appelé FMR1 par l'équipe de C.T. Caskey et D.L. Nelson (Houston, TX, USA) [1, 2]. Cette équipe vient maintenant de montrer que cette dernière hypothèse est la bonne : il existe une étroite corrélation entre le niveau de méthylation du site amplifié, l'inactivation du gène et l'expression de la symptomatologie clinique. Le gène est exprimé chez les hommes transmetteurs ; chez de rares hommes présentant des symptômes de cette affection, l'expression du gène FMR1 est associée à une méthylation incomplète du site fragile. Dans ce dernier cas, on ne sait pas si l'expression de la maladie est liée à une insuffisance d'expression du gène FMR1 ou à l'association de l'amplification au niveau du site fragile à l'inactivation d'autres gènes situés dans la région.

[1. Verjerk AJMH, *et al.* *Cell* 1991 ; 65 : 905-14.]
[2. Pieretti M, *et al.* *Cell* 1991 ; 66 : 817-22.]

■■■ **La différenciation mégacaryocytaire serait due à une régulation négative des gènes de différenciation érythroïde.** La différenciation érythropoïétique est un système hiérarchique multilinéaire au cours duquel une cellule pluripotente peut se différencier en toute une série de cellules progénitrices spécifiques engagées. On sait en particulier que les lignées érythroïde et mégacaryocytaire sont très voisines l'une de l'autre, car on a pu identifier des facteurs transcriptionnels communs. Cependant, les gènes exprimés par ces lignées ne sont pas les mêmes ; il existe donc un autre niveau de régulation. La difficulté de purifier ces cellules, l'absence de critère permettant de les identifier, ont toujours rendu difficile le déchiffrement des mécanismes mis en jeu. D'où l'intérêt qu'il y a à utiliser des lignées cellulaires reproduisant plus ou moins les étapes de la différenciation. La cellule K 562 est une cellule leucémique humaine, arrêtée dans sa différenciation, qui en culture exprime normalement des gènes érythroïdes fœtaux, dont les gènes γ globine. Sous l'action des esters de phorbol, ces cellules présentent un changement de phénotype et se mettent à exprimer des gènes de la différenciation mégacaryocytaire (en particulier le DGGE B). L'intérêt de ce système vient de la relative similitude entre le mécanisme d'action des esters de phorbol, par activation d'une sérineprotéine-kinase, et des systèmes de signaux naturels. Dans ce changement de différenciation phénotypique intervient à la fois l'activation de gènes spécifiques de la différenciation mégacaryocytaire et l'extinction de gènes érythroïdes. C'est ce dernier mécanisme qui a été étudié en détails, en particulier l'extinction du gène de γ globine. Les auteurs ont démontré que cette régulation négative est à la fois transcriptionnelle et post-transcriptionnelle. Par des artifices techniques utilisant soit un gène rapporteur externe, celui de la luciférase, soit un gène marqué plus court, ils ont pu séparer ces deux

mécanismes. La disparition de l'ARN messenger γ globine, habituellement un des plus stables qui soit, est due à une diminution de transcription, par un facteur de 4 à 8, et à une déstabilisation encore plus importante du messenger qui reste transcrit. Le mécanisme de cette déstabilisation n'est pas totalement compris ; on sait qu'il implique tout ou partie de la séquence non traduite en 3' du messenger $A\gamma$. Le mécanisme de la régulation transcriptionnelle négative est, lui, particulièrement intéressant. En effet, cette régulation par les esters de phorbol s'exerce au niveau d'une séquence de 750 pb, située en 3' du gène $A\gamma$ et désignée comme *enhancer*. Elle se fait par l'intermédiaire d'un facteur ubiquitaire induit, appelé AP-1 dont la séquence de reconnaissance est la même que celle d'un facteur spécifique des érythroblastes NFE-2. Les esters de phorbols activant AP1 l'amèneraient à se fixer au site normalement occupé par NFE-2, déplaçant ce dernier et entraînant ainsi l'inactivation de gènes spécifiques de la différenciation érythroïde comme le gène de la γ globine. On peut spéculer sur un déplacement d'équilibre inverse au cours de la différenciation érythropoïétique. [Lumelsky NL, et al. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 3528-36.]

■■■ **Les glucocorticoïdes induisent la transcription et l'expression des récepteurs adrénergiques $\alpha 1B$.** Les hormones stéroïdes exercent leurs effets en grande partie par la régulation de l'expression des gènes. Sakae et Hoffman (Université de Stanford, CA, USA) [1] ont étudié les effets d'un glucocorticoïde, la dexaméthasone, sur l'expression du gène du récepteur adrénergique $\alpha 1B$ (dont l'activation par les catécholamines déclenche une vasoconstriction). Sur des cellules musculaires lisses en culture, la dexaméthasone produit une augmentation de l'expression des

récepteurs $\alpha 1B$. La quantité d'ARN messenger correspondant est accrue par l'exposition à la dexaméthasone pendant 48 heures ; la testostérone exerce une action analogue, l'aldostérone a un effet moindre alors que le β estradiol et la progestérone sont sans effet. Le taux de transcription du gène du récepteur $\alpha 1B$ est augmenté par la dexaméthasone tandis que la demi-vie de l'ARN messenger du récepteur est inchangée. Ainsi les glucocorticoïdes contrôlent l'expression des récepteurs $\alpha 1B$ en augmentant le taux de transcription du gène correspondant. Cela pourrait expliquer l'hyperréactivité vasculaire aux catécholamines et l'hypertension artérielle induites par l'excès de glucocorticoïdes.

[1. Sakae M, Hoffman BB. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 385-9].

■■■ **Le pouvoir immunosuppresseur de la ciclosporine et du FK 506 passe-t-il par une inhibition de la calcineurine ?** Les puissants immunosuppresseurs FK 506 et ciclosporine se fixent à des protéines que l'on appelle des immunophilines. Toutes deux, la FKBP (*FK506-binding protein*) et la cyclophiline sont des peptidyl-prolyl-isomérases dont l'activité est inhibée par la fixation de leur ligand (*m/s n° 10, vol. 6, p. 1022*). Cependant, il ne semble pas y avoir de relation entre cette inhibition enzymatique et le pouvoir immunosuppresseur. Le FK 506 et la ciclosporine bloquent l'activation des lymphocytes T. Cette dernière nécessite la mise en œuvre de deux voies de signalisation, l'une passant par la protéine kinase C (PKC) et l'autre par l'augmentation du calcium intracytoplasmique. L'un des phénomènes les plus précoces de cette activation est l'augmentation de la transcription des gènes de l'interleukine 2 (IL-2) et de son récepteur. Parmi les facteurs de transcription réglant l'expression du gène *IL-2*, NFAT

(*nuclear factor of activated T cells*) semble jouer un rôle essentiel. Ce facteur est composé de deux sous-unités, l'une toujours localisée dans le noyau est synthétisée après une stimulation par les esters de phorbol mettant en jeu la PKC. L'autre sous-unité, préexistante à l'activation lymphocytaire, est cytoplasmique dans la cellule au repos, mais est transloquée dans le noyau sous l'action de l'augmentation du calcium intracytosolique. W.M. Flanagan, du laboratoire de G.R. Crabtree (Stanford, CA, USA) [1] vient de montrer que c'est cette translocation qui est bloquée par le FK506 et la ciclosporine. Le mécanisme de cet effet est suggéré par de récents résultats obtenus indépendamment par G. Liu *et al.*, du laboratoire de S.L. Shriver, à Cambridge (MA, USA), en collaboration avec des chercheurs de Stanford [2]. Ces équipes ont en effet postulé que les immunosuppresseurs couplés à leur immunophiline spécifique devaient interagir avec une autre protéine, véritable cible de l'effet immunosuppresseur. Par chromatographie d'affinité, cette autre protéine a pu être identifiée à la calcineurine, une phosphatase activée par le calcium en présence de calmoduline. Le complexe immunosuppresseur/immunophiline inactive l'activité phosphatase du complexe calcineurine/calmoduline en présence de Ca^{2+} . On peut donc imaginer que la sous-unité cytosolique du facteur NFAT nécessite, pour être transloquée dans le noyau, une étape de déphosphorylation assurée par la calcineurine. L'inhibition de cette déphosphorylation serait la cause du blocage de la translocation nucléaire de cette sous-unité, et ainsi de la non activation transcriptionnelle du gène de l'IL-2. Ce mécanisme reste spéculatif, mais nul doute qu'il sera, très rapidement, infirmé ou confirmé, ce dont nous informerons nos lecteurs.

[1. Flanagan WM, *et al.* *Nature* 1991 ; 352 : 803-7.]

[2. Liu J, *et al.* *Cell* 1991 ; 66 : 807-15.]

■■■ **Hépatite à virus C et transplantation d'organes.** Le rôle de l'infection par le virus C dans les hépatites survenant après transplantation, notamment rénale, est soupçonné depuis longtemps, mais n'est pas clairement établi ; il est pourtant fortement suggéré par l'incidence encore élevée d'hépatites chroniques post-transplantation, malgré l'exclusion des donneurs, porteurs de l'antigène HBs. Pereira *et al.* (*New England Organ Bank*, Brooklin, MA, USA) ont récemment étudié, de façon rétrospective entre 1986 et 1990, l'incidence de l'infection à virus C après transplantation, à partir de l'analyse des sérums de tous les donneurs à la banque d'organes de Nouvelle-Angleterre, et de celle des sérums des receveurs, avant et après transplantation. Les anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC) ont été recherchés par une technique ELISA de première génération — envers l'antigène c100-3 —, et par un test immunoenzymatique de seconde génération détectant des anticorps vis-à-vis des antigènes c100 et 33c ; a également été recherché, par une technique de PCR, l'ARN du VHC. Treize (1,8 %) des 716 donneurs d'organes avaient des anticorps anti-VHC, leurs organes (19 reins, 6 cœurs et 4 foies) ayant été transplantés chez 29 receveurs. Une hépatite de type non A, non B post-transplantation est survenue chez 14 (48 %) de ces 29 receveurs, c'est-à-dire avec une prévalence plus de sept fois supérieure à celle préalablement établie (6,5 %) à partir de donneurs non testés vis-à-vis du virus C. Le VHC était la cause de l'hépatopathie non A, non B post-transplantation chez 12 des 13 receveurs (92 %), dont les sérums ont été disponibles pour la recherche d'anticorps anti-VHC. Ceux-ci ont été détectés par ELISA dans huit cas, par le test immunoenzymatique de seconde génération dans un autre cas ; l'ARN du VHC a été détecté dans les trois autres cas. L'hépatopathie s'est exprimée dans un délai moyen de 3,8 mois après la transplantation, et a évolué vers la

chronicité dans 12 des 13 cas. Elle était plus fréquente ($p = 0,04$) chez les sujets ayant reçu des préparations anti-lymphocytaires (globulines anti-lymphocytaires, globulines anti-thymocytes et anti-CD3). Deux sujets sont décédés de leur hépatopathie dans un délai de dix mois. Ces données suggèrent que l'essentiel des hépatopathies non A, non B observées après transplantation, notamment rénale, est dû au virus C ; néanmoins, le nombre de sujets étudiés reste trop modeste pour éliminer définitivement, chez certains receveurs, la réactivation d'une hépatite C existant préalablement à la transplantation. La conséquence pratique de ce travail est néanmoins importante : à la banque d'organes de Nouvelle-Angleterre, la présence d'anticorps anti-VHC chez les donneurs, systématiquement recherchée, n'est, certes, toujours pas une cause d'exclusion de ces donneurs, pour ce qui est des transplantations cardiaques, hépatiques ou pulmonaires, mais en est devenue une, pour ce qui est des transplantations rénales et pancréatiques. Des études complémentaires sur une plus grande échelle, utilisant notamment le test RIBA (*recombinant immunoblot assay*) pour la reconnaissance des anticorps anti-VHC, seront particulièrement justifiées. Le développement de techniques permettant la détection du virus à l'échelon des tissus apparaît comme une perspective cliniquement importante.

[1. Pereira BJJ, *et al.* *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 454-60.]

Les lecteurs intéressés par le débat actuel sur l'expérimentation animale liront avec intérêt le numéro double printemps/été (n° 7-8) de la revue ALLIAGE (Culture-Science-Technique), spécialement consacré aux rapports de l'homme et de l'animal.*

* En vente dans les librairies (Diffusion Le Seuil) ou au siège de la revue : ANAIS, 78 route de St-Pierre de Féric, 06000 Nice, France. Tél. : 16.93.86.87.93