

## Hyperhomocystéinémie et athérosclérose

Karine Demuth  
Séverine Drunat  
Jean-Louis Paul  
Nicole Moatti

L'athérosclérose est une maladie multifactorielle, dont la genèse fait intervenir des déterminants génétiques et environnementaux conduisant à une agression de la paroi artérielle. Sa prévention repose actuellement sur la correction de facteurs de risque cardiovasculaires bien identifiés, tels que les dyslipidémies, l'hypertension artérielle ou le tabagisme. Certains individus développent cependant une athérosclérose en l'absence de ces facteurs de risque. De nouveaux facteurs de risque ont donc été recherchés et identifiés, parmi lesquels figure l'hyperhomocystéinémie. Les connaissances concernant l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie ont récemment progressé et permis d'identifier certains des mécanismes moléculaires impliqués dans les effets délétères de l'homocystéine. L'analyse de ces mécanismes ouvre des perspectives pour la prévention de l'athérosclérose, tant sur le plan de la normalisation de l'homocystéinémie que sur celui de la protection des cibles moléculaires de l'homocystéine.

Les études cliniques, épidémiologiques et expérimentales réalisées depuis trente ans, suggèrent d'une part que l'hyperhomocystéinémie pourrait constituer un facteur de risque indépendant de l'athérosclérose et démontrent, d'autre part, que la majorité des hyperhomocystéinémies peut être contrôlée par supplémentation vitaminique. En revanche, la nature des mécanismes moléculaires à l'origine de l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie, ainsi que le bénéfice clinique associé à sa normalisation biologique ne sont que partiellement élucidés (*m/s* 1996, n°5, p. 649). Dans cette revue, nous présenterons une synthèse des différentes hypothèses pouvant expliquer

l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie ainsi qu'une analyse des mécanismes moléculaires potentiellement impliqués. Nous conclurons sur les voies de recherche actuelles et sur les nouvelles orientations thérapeutiques.

### Métabolisme de l'homocystéine

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé soufré intermédiaire du métabolisme de la méthionine. Elle est synthétisée par toutes les cellules de l'organisme et peut être catabolisée selon deux voies métaboliques décrites dans la *figure 1*: la voie de la transsulfuration et la voie de la reméthylation [1]. En cas d'apport pro-

#### ADRESSES

K. Demuth, S. Drunat, J.L. Paul, N. Moatti : Laboratoire de biochimie appliquée, UPRES E.A 2708 et IFR « Institut de signalisation et innovation thérapeutique », Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, 5, rue Jean-Baptiste-Clément, 92296 Châtenay-Malabry, France et Laboratoire de biochimie, Hôpital européen Georges-Pompidou, 20-40, rue Leblanc, 75015 Paris, France.

#### TIRÉS À PART

K. Demuth.

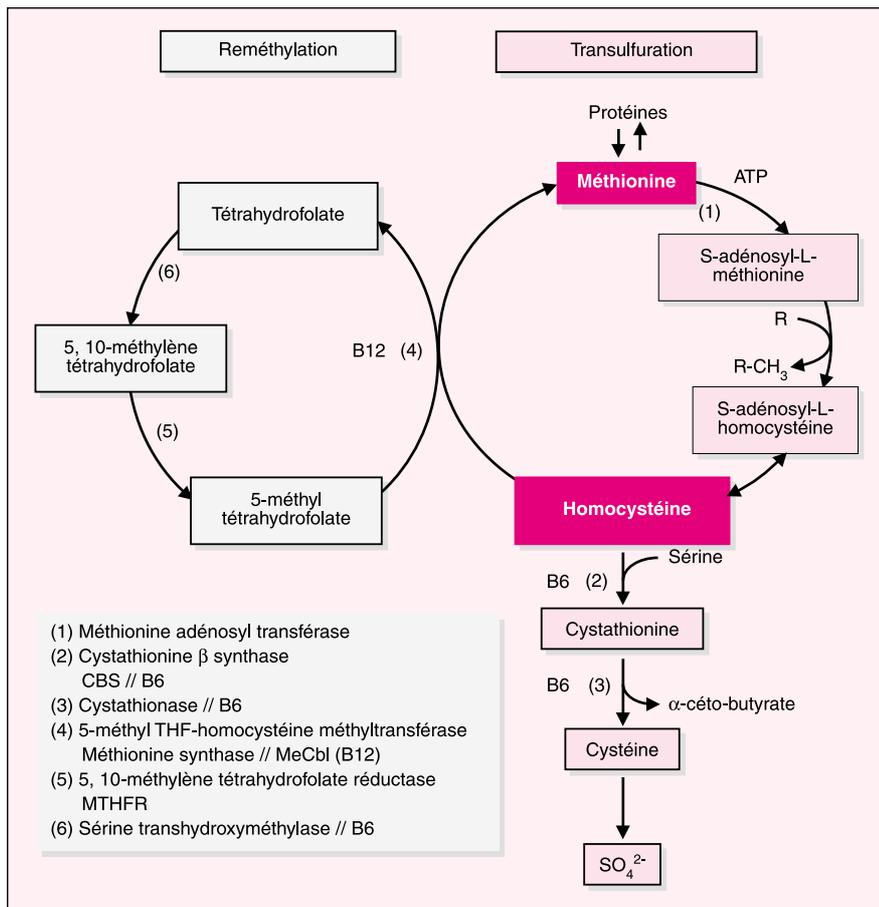


Figure 1. **Métabolisme intracellulaire de l'homocystéine.** L'Hcy est un acide aminé intermédiaire des voies de transulfuration et de reméthylation du métabolisme de la méthionine. **La voie de la transulfuration** permet à la méthionine, indispensable chez l'homme, d'apporter un atome de soufre pour la formation de la cystéine. L'activation de la méthionine en S-adenosyl-L-méthionine (SAM) se fait sous l'influence de la méthionine-adenosyl-transférase. La SAM, principal donneur de groupement méthyle de l'organisme, cède ensuite ce groupement pour donner naissance à la S-adenosyl-L-homocystéine, qui est hydrolysée en adénosine et en Hcy par la S-adenosyl-L-homocystéine hydrolase. Sous l'influence de la cystathionine bêta-synthase (CBS) dont le cofacteur est le phosphate de pyridoxal (vit B6), l'Hcy se condense ensuite avec la sérine pour former la cystathionine, elle-même clivée et désaminée en cystéine et en alpha-céto-butyrate. **La voie de la reméthylation** assure la reméthylation de l'Hcy en méthionine selon deux réactions enzymatiques distinctes. La principale réaction fait intervenir la 5-méthyl-tétrahydrofolate-homocystéine méthyltransférase (méthionine synthase) dont le cofacteur est la méthyl-cabalamine (dérivé de la vitamine B12). Dans cette voie, le groupement méthyle est apporté par le 5-méthyl-tétrahydrofolate, dont la formation est sous la dépendance de la 5,10-méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR). L'autre réaction fait intervenir la bêtaïne-homocystéine méthyltransférase. L'importance relative de ces deux voies de reméthylation varie en fonction du tissu considéré. Par exemple, la bêtaïne-homocystéine méthyltransférase est très exprimée par les cellules hépatiques et, selon certains auteurs, par les cellules rénales; elle l'est beaucoup moins au niveau de la paroi vasculaire où la 5-méthyl-tétrahydrofolate-homocystéine méthyltransférase prédomine.

téique excessif, la voie de la transulfuration est favorisée par rétrocontrôle positif de la cystathionine bêta-synthase (CBS) et rétrocontrôle

négatif de la 5,10-méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR), le régulateur allostérique étant la S-adenosyl-L-méthionine (SAM). Dans ce

cas, la cystéine formée à partir de l'Hcy est incorporée dans le glutathion ou convertie en sulfates qui sont excrétés dans les urines. A l'inverse, en cas de déficit protéique, la voie de la reméthylation est favorisée et l'Hcy est recyclée afin de maintenir un pool cellulaire suffisant de méthionine. Dans les deux cas, l'Hcy est métabolisée dès sa formation et sa concentration intracellulaire demeure faible (de l'ordre de 5 nmol/g de tissu). Dans les conditions physiologiques normales, l'homocystéinémie est également faible puisque l'Hcy plasmatique dérive du métabolisme cellulaire. En revanche, tout déficit portant sur l'un des systèmes enzymatiques impliqués dans le métabolisme de l'Hcy entraîne une augmentation de ses concentrations cellulaires, plasmatiques et urinaires. Par ailleurs, la SAM constituant un régulateur allostérique des enzymes impliquées dans les voies de la transulfuration et de la reméthylation, un déficit enzymatique portant initialement sur l'une de ces deux voies métaboliques entraîne indirectement une dérégulation de l'autre voie, ce qui a pour conséquence d'accroître l'accumulation d'Hcy. En raison de ce processus d'auto-amplification du défaut de catabolisme de l'Hcy et du déséquilibre fréquent entre les apports nutritionnels (100 g de viande correspondent à 600 mg de méthionine) et les besoins (200 à 300 mg de méthionine par jour pour un adulte), l'intégrité de tous les systèmes enzymatiques impliqués dans le catabolisme de l'Hcy est indispensable à son homéostasie cellulaire et systémique.

L'Hcy plasmatique, dont la concentration physiologique est comprise entre 5 et 15 µmol/L, circule à la fois sous forme liée aux protéines (75 % à 80 % de l'Hcy plasmatique totale) et sous forme libre (figure 2). En raison de cette répartition, seulement 20 % de l'Hcy plasmatique totale peuvent être filtrés par le rein. Par ailleurs, la majorité de ces 20 % étant catabolisée par les cellules tubulaires, l'excrétion urinaire d'Hcy est très faible (3,5 à 10 µmol/24 h). Le dosage de l'Hcy plasmatique totale à jeun permet de définir l'hyperhomocystéinémie modérée (16 à 30 µmol/l), intermédiaire (31 à 100 µmol/l) et sévère (au-delà de 100 µmol/l).

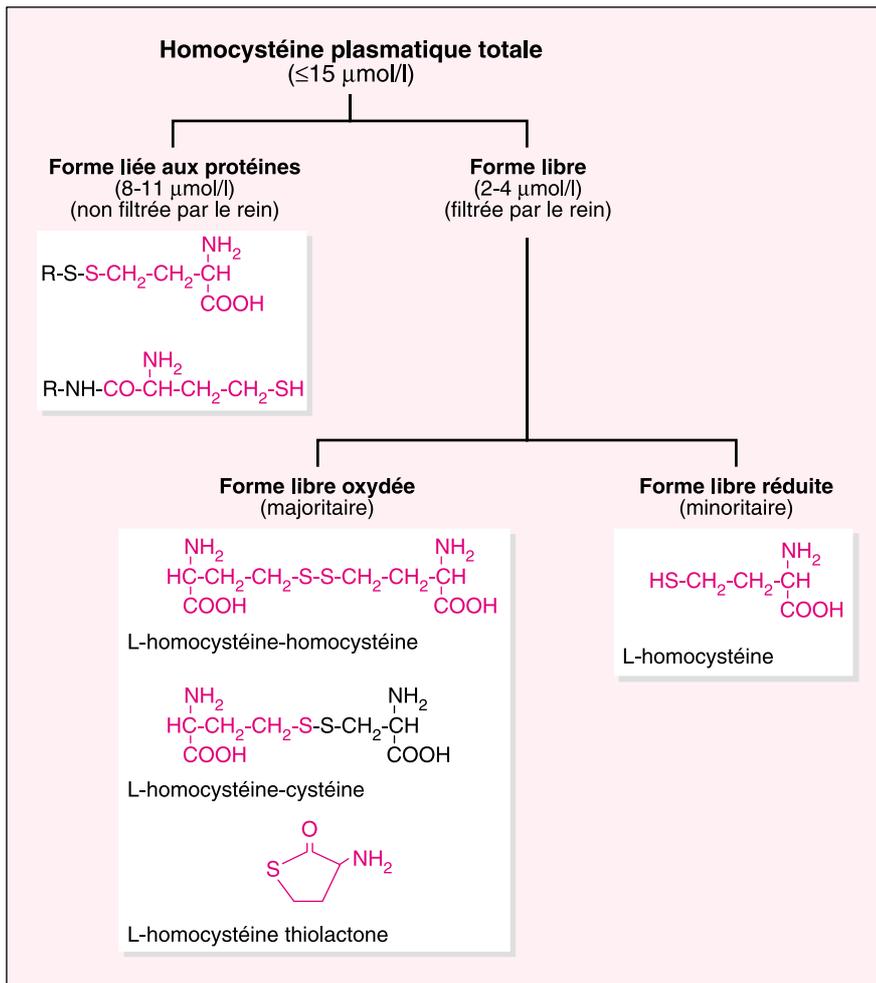


Figure 2. **Formes circulantes d'homocystéine plasmatique.** L'Hcy circule dans le plasma sous forme liée aux protéines et sous forme libre. L'Hcy liée aux protéines, par l'intermédiaire de ponts disulfures réversibles ou de ponts peptidiques, représente 75 % à 80 % de l'Hcy plasmatique totale. L'Hcy libre existe sous deux formes : une forme libre oxydée, majoritaire, et une forme libre réduite, correspondant à l'homocystéine proprement dite. La forme libre oxydée est principalement représentée par le disulfide homocystéine-homocystéine (homocystine), par des disulfides mixtes (tels que le disulfide homocystéine-cystéine) et par l'homocystéine thiolactone.

## Hyperhomocystéinémie et athérosclérose

L'hyperhomocystéinémie peut avoir pour origine des troubles d'ordre génétique, nutritionnel et thérapeutique. Elle peut également être associée à différents états pathologiques. On distingue classiquement les causes d'hyperhomocystéinémie sévère (exclusivement génétiques) des causes d'hyperhomocystéinémie intermédiaire ou modérée (génétiques, nutritionnelles, thérapeutiques ou pathologiques) (Tableau I). L'établissement de la relation entre

hyperhomocystéinémie et athérosclérose provient initialement de l'analyse comparée des profils cliniques et biologiques décrits pour les trois déficits enzymatiques, d'origine génétique, associés à une hyperhomocystéinémie sévère chez l'homme [2]. Le rôle pro-athérogène de l'hyperhomocystéinémie, y compris celui de l'hyperhomocystéinémie intermédiaire ou modérée, a ensuite été confirmé par l'utilisation de modèles animaux et par des études cliniques et épidémiologiques chez l'homme. La majorité des enquêtes d'observation a rapporté l'existence

d'une forte association entre l'hyperhomocystéinémie et l'ensemble des maladies occlusives artérielles incluant les pathologies cérébro-vasculaires, les cardiopathies ischémiques et les atteintes artérielles périphériques [3]. Parallèlement, l'ensemble des études prospectives conduites chez des patients atteints de maladies cardiovasculaires (CV) déclarées, ou de maladies conférant un risque CV accru au moment de l'inclusion, a montré que l'hyperhomocystéinémie était prédictive de la survenue d'accidents CV. En revanche, les douze études prospectives conduites chez des sujets sains au moment de l'inclusion ont apporté des résultats contradictoires, la moitié d'entre elles concluant au caractère causal de l'hyperhomocystéinémie dans les manifestations cliniques de l'athérosclérose, alors que l'autre moitié retenait l'absence de relation de causalité [4]. Si ces différents travaux ne permettent pas d'affirmer que l'hyperhomocystéinémie constitue un facteur de risque CV indépendant, ils démontrent sans conteste qu'elle contribue activement au développement des maladies CV chez les sujets à haut risque. Plus récemment, quelques études transversales ont recherché, chez des sujets asymptomatiques pour les pathologies CV, une association entre l'hyperhomocystéinémie et la présence d'altérations structurales et fonctionnelles précliniques de la paroi artérielle. Sur le plan fonctionnel, l'hyperhomocystéinémie a été associée à une altération de la vasodilatation dépendante de l'endothélium [5]. D'un point de vue structural, nous avons démontré que l'augmentation de l'hyperhomocystéinémie était associée à un remodelage de l'artère carotide, indépendamment des déterminants connus du diamètre et de l'épaisseur artérielle, et suggéré que l'hyperhomocystéinémie pouvait également constituer un marqueur d'athérosclérose préclinique [6]. De nombreuses études d'intervention ont par ailleurs montré qu'une supplémentation en folates permettait de contrôler la majorité des hyperhomocystéinémies modérées [7]. Ces dernières concernant 5 % à 10 % de la population générale, l'impact d'une telle supplémentation vitaminique pourrait être particulièrement important

Tableau I		
CLASSIFICATION DES HYPERHOMOCYSTÉINÉMIES		
	Hyperhomocystéinémie sévère (> 100 µmol/l)	Hyperhomocystéinémie intermédiaire et modérée (16 à 100 µmol/l)
<b>Causes</b>		
Génétiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Déficit homozygote en CBS</li> <li>• Déficit homozygote en MTHFR (excepté la mutation C677T)</li> <li>• Déficit en méthionine synthase (maladies cbl E et cbl G)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Déficit hétérozygote en CBS</li> <li>• Déficit homozygote en MTHFR (mutation C677T)</li> <li>• Déficit hétérozygote en MTHFR (ensemble des mutations décrites)</li> </ul>
Nutritionnelles		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Déficiences en vitamines B6 et B12</li> <li>• Déficiences en folates et en bêtaïne</li> </ul>
Thérapeutiques		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticonvulsivants</li> <li>• Méthotrexate, azaribine</li> <li>• Théophylline, oxyde nitrique</li> </ul>
États pathologiques		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insuffisance rénale chronique</li> <li>• Hypothyroïdie</li> <li>• Psoriasis</li> <li>• Anémie pernicieuse</li> <li>• Certains carcinomes, LAL</li> </ul>
<b>Fréquence</b>	Faible	Élevée
<b>Signes cliniques</b>	Précoces Sévères Ubiquitaires	Tardifs Ténus Système cardiovasculaire

CBS : cystathionine bêta-synthase ; LAL : leucémies aiguës lymphoblastiques ; MTHFR : 5,10-méthylène-tétrahydrofolate réductase.

en termes d'économie de la santé. Cependant, le bénéfice clinique (réduction de la morbi-mortalité CV) d'une normalisation de l'homocystéinémie n'a pas encore été établi. Des études prospectives d'intervention sont actuellement en cours afin de démontrer l'utilité clinique de cette stratégie.

### Pathogénicité de l'hyperhomocystéinémie

Au cours de cette dernière décennie, deux hypothèses ont été formulées pour expliquer l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie : l'hypothèse lipidique, selon laquelle l'altération du métabolisme des lipoprotéines induit secondairement une atteinte de la paroi vasculaire, et l'hypothèse inflammatoire, dominée par l'agression directe des cellules et du tissu conjonctif vasculaires.

### Hypothèse lipidique

La peroxydation lipidique des lipoprotéines de basse densité (LDL), induisant une fragmentation de leur apolipoprotéine (apo) B100 à l'origine d'une augmentation de leur capture par les récepteurs *scavenger* des macrophages, serait en partie responsable de leur athérogénicité (*m/s* 1997, n° 11, p. 1363). Les dérivés soufrés possédant un groupement thiol libre sont susceptibles d'engendrer l'oxydation des LDL par les cellules endothéliales et les macrophages *in vitro*. Olszewski et Mc Cully ont ainsi élaboré l'hypothèse selon laquelle l'Hcy serait le principal composé soufré favorisant l'oxydation des LDL *in vivo*, propriété à l'origine de sa pathogénicité vasculaire [8]. Plusieurs approches expérimentales ont confirmé la capacité de l'Hcy à modifier les propriétés physico-chi-

miques et biologiques des LDL *in vitro*. L'incubation de LDL en présence d'Hcy induit une diminution de leur contenu en acides gras polyinsaturés, la formation de produits terminaux de la peroxydation lipidique (substances réagissant à l'acide thiobarbiturique ou TBARS) et une fragmentation de leur apo B100 [9]. Par ailleurs, la thiolation des LDL par l'Hcy leur confère certaines propriétés pro-athérogènes semblables à celles des LDL oxydées [10]. En outre, les résultats d'études cliniques sont en faveur de l'existence d'un lien entre l'hyperhomocystéinémie et la peroxydation lipidique chez l'homme. Ainsi, l'existence d'une corrélation positive entre l'homocystéinémie et la concentration plasmatique d'un nouveau marqueur de la peroxydation lipidique, le F2-isoprostane, a récemment été rapportée [11].

A l'inverse, d'autres études ont apporté des arguments allant à l'encontre de l'hypothèse lipidique. En effet, la susceptibilité à l'oxydation des LDL de patients homozygotes pour le déficit en CBS est similaire à celle des LDL de sujets témoins; le contenu en vitamine E des LDL et la concentration des principaux marqueurs circulants de la peroxydation lipidique, ne sont pas non plus modifiés chez ces patients [12]. Par ailleurs, *in vitro*, des concentrations d'Hcy comprises entre 25 et 500 µmol/l protégeraient les LDL contre l'oxydation [13], cet argument étant en faveur d'un effet paradoxalement anti-oxydant de l'Hcy.

En conclusion, si la majorité des études réalisées *in vitro* démontre que l'Hcy induit des modifications structurales des LDL, la quasi-totalité des résultats obtenus *ex vivo* ne confirme pas l'hypothèse selon laquelle l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie pourrait être liée à sa capacité à oxyder les lipoprotéines. Ces études ne permettent pas non plus d'infirmer l'hypothèse lipidique puisque: (1) l'existence même de

LDL oxydées circulantes est controversée; (2) le degré d'oxydation des LDL est souvent apprécié par la détermination de leur contenu en TBARS qui, en raison de sa grande variabilité, ne permet pas de mettre en évidence de faibles variations; (3) le fait que les LDL de patients homozygotes pour le déficit en CBS ne soient pas plus susceptibles à l'oxydation *in vitro* que celles de sujets contrôles ne permet pas d'écarter l'hypothèse selon laquelle l'Hcy modifierait les LDL selon un processus peroxydatif, *in vivo*.

### Hypothèse inflammatoire

L'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie pourrait également résulter d'une activation primitive des cellules endothéliales vasculaires, conduisant à leur dérégulation fonctionnelle, suivie d'une activation plaquettaire et leucocytaire et d'une prolifération des cellules musculaires lisses (CML), parallèlement à une modification de la matrice sous-endothéliale [14].

L'action délétère de l'Hcy sur la fonctionnalité des cellules endothé-

liales a été mise en évidence à la fois *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, des concentrations non cytotoxiques (inférieures à 1 mmol/l) d'Hcy modifient la production ou l'activation par les cellules endothéliales de médiateurs intervenant dans les processus d'agrégation plaquettaire [15], de coagulation [16] et de fibrinolyse [17]; elles altèrent également la production et/ou la bio-disponibilité des médiateurs endothéliaux vasodilatateurs [15] et vasoconstricteurs [18] (Tableau II). Ces résultats expérimentaux ont été confirmés par des études cliniques montrant que l'hyperhomocystéinémie s'accompagne de variations de la concentration plasmatique et de l'activité de certains médiateurs dérivés de l'endothélium: augmentation des concentrations en facteur von Willebrand [19], en endothéline-1 [20] et en molécules d'adhérence solubles telles que ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) et VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) [21]; diminution de l'activité de l'antithrombine III [22]. Par ailleurs, chez l'homme, l'hyperhomocystéinémie s'accompagne d'une altération de la vasodilatation dépen-

Tableau II

#### INFLUENCE DE L'HOMOCYSTÉINE SUR LA FONCTIONNALITÉ ENDOTHÉLIALE *IN VITRO*

Médiateurs endothéliaux	Effet de l'homocystéine	Conséquence fonctionnelle	
Protéoglycanes de type <i>heparan sulfate</i>	Diminution de l'expression membranaire	Altération de la fonction d'inhibition de l'agrégation plaquettaire et de la coagulation	
Facteurs V et XII	Potentialisation de l'activation	Activation de la coagulation	<b>Induction d'un état procoagulant</b>
Facteur tissulaire	Induction de l'expression		
Thrombomoduline	Diminution de l'expression membranaire	Altération de la fonction d'inhibition de la coagulation	
Activateur tissulaire du plasminogène	Inhibition de la liaison aux récepteurs membranaires	Inhibition de la fibrinolyse	
Prostacycline	Diminution de la production	Diminution de la vasodilatation et activation de la croissance des cellules musculaires lisses	<b>Dérégulation du tonus vasculaire</b>
Monoxyde d'azote	Diminution de la production et/ou de la biodisponibilité		
Endothéline-1	Diminution de la synthèse	Diminution de la vasoconstriction et de la croissance des cellules musculaires lisses	

dante de l'endothélium, sans modification de la vasodilatation indépendante de l'endothélium [23]. Ainsi, l'action pro-athérogène de l'hyperhomocystéinémie pourrait provenir en partie d'une altération de la fonctionnalité de l'endothélium vasculaire, aboutissant à l'induction d'un état procoagulant et proinflammatoire ainsi qu'à la dérégulation du tonus vasculaire.

L'action mitogène de l'Hcy sur les CML et sa toxicité sur le tissu conjonctif vasculaire ont été révélées par l'analyse histologique d'artères de patients homocystinuriques, puis confirmées expérimentalement chez l'animal et *in vitro*. L'action mitogène serait directement liée à l'induction de l'expression des gènes des cyclines D1 et A ainsi qu'à l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B dans les CML [24]. Elle serait également indirectement issue des lésions endothéliales évoquées précédemment, ainsi que des processus thrombotiques associés, entraînant la libération intrapariétale de facteurs plaquetaires tels que le PDGF (*platelet derived growth factor*). L'agression du tissu conjonctif vasculaire par l'Hcy pourrait également procéder de multiples mécanismes. Ceux-ci incluent la stimulation de la synthèse de collagène par les CML, l'inhibition de la formation de liaisons intercaténaire entre les molécules primitives de collagène et d'élastine, l'induction de collagénases, l'accélération de la dégradation des fibres d'élastine et l'induction de la sécrétion cellulaire de protéoglycannes particulièrement insolubles, en raison de leur caractère excessivement sulfaté [25].

### Hypothèse unificatrice

Le consensus actuel est de considérer que les hypothèses lipidique et inflammatoire ne sont pas alternatives mais, au contraire, se potentialisent pour expliquer les effets délétères de l'hyperhomocystéinémie. En effet, les LDL modifiées (par l'Hcy) présentent des propriétés biologiques conduisant à une dérégulation de l'état fonctionnel des cellules endothéliales, comparable à celle décrite pour l'effet direct de l'Hcy sur l'endothélium vasculaire. Par ailleurs, les cellules endothéliales activées, par exemple par les radicaux libres oxygénés issus de l'auto-oxydation de l'Hcy ou par la dérégulation du statut thiol-redox, interagissent avec les LDL en les oxydant, ce qui potentialise leurs effets délétères sur la paroi artérielle [26]. La physiopathologie de l'interaction homocystéine-paroi vasculaire semble donc être complexe et multifactorielle. Dans l'état actuel des connaissances, elle peut être schématiquement résumée en quatre processus, à l'origine de la constitution d'un environnement pro-athérogène, représentés sur la *figure 3*. Cependant, de nombreuses questions restent posées concernant la nature des mécanismes moléculaires impliqués.

caux libres oxygénés issus de l'auto-oxydation de l'Hcy ou par la dérégulation du statut thiol-redox, interagissent avec les LDL en les oxydant, ce qui potentialise leurs effets délétères sur la paroi artérielle [26]. La physiopathologie de l'interaction homocystéine-paroi vasculaire semble donc être complexe et multifactorielle. Dans l'état actuel des connaissances, elle peut être schématiquement résumée en quatre processus, à l'origine de la constitution d'un environnement pro-athérogène, représentés sur la *figure 3*. Cependant, de nombreuses questions restent posées concernant la nature des mécanismes moléculaires impliqués.

### Mécanismes moléculaires

#### Altération du statut thiol-redox de l'organisme

Nos travaux, ainsi que ceux d'autres auteurs, indiquent que l'influence de

l'Hcy sur la production, l'activation ou l'expression membranaire de médiateurs endothéliaux est dépendante de son groupement thiol libre [16, 18]. L'action délétère de l'Hcy serait liée, d'une part, à la production de radicaux libres oxygénés lors de son auto-oxydation en homocystine et, d'autre part, à son action réductrice entraînant des modifications structurales de diverses protéines et une altération de différentes fonctions cellulaires, telles que la régulation de l'expression des gènes, la maturation post-traductionnelle ou le trafic intracellulaire des protéines [27].

D'un point de vue qualitatif, les autres aminothiols possédant un groupement thiol libre (cystéine, glutathion réduit, cystéinyl-glycine) peuvent, comme l'Hcy, altérer la production de médiateurs endothéliaux et modifier les interactions entre certaines protéines extracellulaires, telles que la lipoprotéine(a) et la fibrine [17]. D'un point de vue

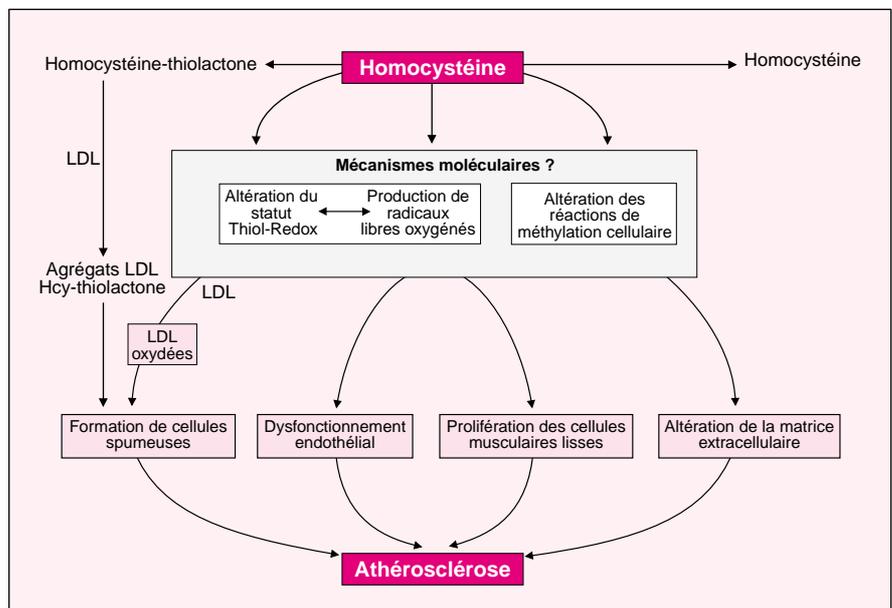


Figure 3. **Mécanismes hypothétiques de la pathogénicité de l'hyperhomocystéinémie.** L'intégration des hypothèses lipidique et inflammatoire concernant l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie conduit à un schéma unificateur, expliquant les propriétés délétères de l'Hcy pour la paroi artérielle : (1) l'agression des cellules endothéliales, à l'origine d'une perturbation de l'homéostasie vasculaire; (2) l'induction de la prolifération des CML, responsable d'une hyperplasie pariétale; (3) la modification de la matrice extracellulaire, qui aboutit à une altération des propriétés mécaniques de la paroi artérielle; (4) la modification du métabolisme des LDL, qui favorise le développement de cellules spumeuses et majore les effets de l'Hcy sur l'endothélium. Hcy: homocystéine; LDL: lipoprotéines de basse densité.

quantitatif, la cystéine est l'aminothiols le plus abondant dans le plasma. Sa concentration chez l'adulte sain est en moyenne de 250  $\mu\text{mol/l}$ , dont 5 % sont sous forme libre réduite [28]. Le glutathion est l'aminothiols le plus abondant dans le milieu intracellulaire, où la concentration de sa forme réduite est en moyenne de 100 nmol/mg de protéines [29]. Ces données conduisent à se demander comment la seule augmentation des concentrations plasmatiques et tissulaires d'Hcy peut majorer le risque CV, alors que les autres aminothiols sont présents à des concentrations beaucoup plus importantes dans l'organisme.

L'Hcy possède des propriétés spécifiques, les plus remarquables étant la diminution de l'activité de la glutathion peroxydase intracellulaire [30], l'inhibition de la synthèse d'ADN et de la croissance des cellules endothéliales [31], l'induction de l'expression d'une protéine (GRP 78/BIP) impliquée dans la régulation du trafic intracellulaire [32] et la modification des protéines par homocystéinylation [33].

Concernant les concentrations plasmatiques d'Hcy et de cystéine, deux points sont importants à considérer. Le premier est que les patients hyperhomocystéinémiques ont habituellement une cystéinémie normale, sauf dans les cas d'insuffisance rénale chronique. Dans ce cas, la cystéinémie n'est augmentée que de 54 % tandis que l'homocystéinémie est augmentée de 290 % [34]. Par ailleurs, l'homocystéinémie peut atteindre 500  $\mu\text{mol/l}$  alors que de telles valeurs de cystéinémie ne sont jamais observées chez l'homme [35]. Or, *in vitro*, l'effet délétère des aminothiols sur la fonctionnalité des cellules endothéliales est dose-dépendant [16, 18]. Il est donc possible d'envisager qu'*in vivo*, l'impact d'une augmentation pathologique de la cystéinémie soit moindre par rapport à celui d'une augmentation pathologique de l'homocystéinémie. Le second point concerne les variations du pourcentage de formes libres et liées aux protéines plasmatiques de ces deux acides aminés en fonction de l'homocystéinémie. Ainsi, le rapport Hcy libre/cystéine libre est plus élevé chez les sujets hyperhomocystéinémiques que chez les sujets

normohomocystéinémiques [36]. En outre, la proportion d'Hcy libre réduite (forme potentiellement athérogène) est augmentée et la proportion de cystéine libre réduite est diminuée chez les sujets hyperhomocystéinémiques présentant des pathologies occlusives artérielles. Ces notions quantitatives suggèrent qu'à l'inverse de l'Hcy, la cystéine n'est pas susceptible d'exercer directement des effets athérogènes *in vivo*. En revanche, le déplacement indirect de l'équilibre entre cystéine libre réduite et cystéine libre oxydée vers la forme libre oxydée, causé par l'hyperhomocystéinémie, pourrait aboutir à la constitution d'un état pro-oxydant favorisant le développement des lésions d'athérosclérose [28]. En prenant en compte les vitesses respectives d'auto-oxydation des deux couples redox homocystéine-homocystine et cystéine-cystine, il a ainsi été proposé qu'un des rôles majeurs de l'Hcy serait de réduire la cystine en cystéine et que l'auto-oxydation de la cystéine soit ensuite responsable du stress oxydant thiol-dépendant [37].

Au niveau cellulaire, des expériences réalisées *in vitro* montrent que l'augmentation de la concentration extracellulaire en Hcy entraîne une élévation de la concentration intracellulaire en Hcy libre réduite et une modification de l'équilibre redox des autres aminothiols, en diminuant la proportion de leur forme réduite [27]. Cette action de l'Hcy est directement délétère pour la cellule puisque le glutathion réduit constitue l'agent réducteur intracellulaire prépondérant.

L'ensemble de ces arguments conforte l'hypothèse selon laquelle les mécanismes moléculaires à l'origine de l'athérogénicité de l'hyperhomocystéinémie seraient relayés, non seulement par la production de radicaux libres oxygénés, mais également par une altération du statut thiol-redox global de l'organisme.

#### **Altération des réactions de méthylation intracellulaire**

Une hypothèse alternative propose que l'altération des fonctions cellulaires induite par l'hyperhomocystéinémie proviendrait non seulement de l'Hcy elle-même, mais aussi de la diminution des capacités de méthyla-

tion intracellulaire, liées à une diminution de la reméthylation intracellulaire de l'Hcy [38].

Le rôle crucial des réactions de méthylation dans le maintien de l'homéostasie cellulaire peut être illustré par l'exemple des réactions de méthylation des protéines, dépendantes de la disponibilité en S-adénosyl-L-méthionine (SAM). Ces réactions sont principalement catalysées par les carboxyl méthyltransférases, qui transfèrent le groupement méthyl de la SAM à certains groupes carboxyl des protéines. La S-adénosyl-L-homocystéine (SAH), formée lors du transfert du groupement méthyl de la SAM, agit comme un inhibiteur compétitif des méthyltransférases. Les L-isoaspartate/D-aspartate méthyltransférases, impliquées dans la réparation des résidus d'acide aspartique présents dans les protéines sous une forme isomérisée ou racémisée, contribuent au maintien de la fonctionnalité des protéines endommagées au cours du vieillissement. Les *C-terminal carboxyl methyltransferases* catalysent la méthylation du groupement carboxy-terminal des protéines possédant une cystéine isoprénylée dans leur portion carboxy-terminale, comme cela est le cas pour plusieurs membres de la famille des petites protéines G (protéines Ras, par exemple). La méthylation des protéines G cytosoliques isoprénylées participe à leur recrutement par la membrane et donc à l'activation de leurs effecteurs impliqués dans diverses fonctions biologiques, telles que la croissance cellulaire, le transport vésiculaire, l'organisation du cytosquelette ou la transduction de signaux [39].

L'altération des réactions de méthylation pourrait participer à l'athérogénicité propre de l'Hcy puisque, parmi les différents aminothiols, seule l'Hcy peut produire de la SAH, en présence d'adénosine et sous l'influence de la SAH synthétase. Différents résultats expérimentaux sont en faveur de cette hypothèse :

– l'Hcy potentialise l'effet inhibiteur de l'adénosine sur la synthèse protéique dans des cultures d'hépatocytes fraîchement isolés. Cet effet est corrélé avec l'augmentation de la concentration en SAH, ainsi qu'avec l'hypométhylation des macromolécules résultant de l'action inhibitrice

de la SAH sur les réactions de trans-méthylation [40] ;

– l'Hcy, mais pas la cystéine, inhibe la prolifération des cellules endothéliales en culture. Cet effet est associé à une augmentation de la concentration en SAH, à une diminution de méthylation et d'association à la membrane de la petite protéine G p21<sup>ras</sup> et à une diminution de l'activité d'une protéine de la famille des MAP (*mitogen-activated protein*) kinase, représentant un effecteur de la protéine G p21<sup>ras</sup> activée [31].

L'hypothèse d'une dérégulation des réactions de méthylation consécutive à une altération du métabolisme intracellulaire de l'Hcy amène plusieurs réflexions :

– elle pourrait expliquer certaines propriétés spécifiques de l'Hcy et ainsi présenter un argument solide en faveur de son athérogénicité propre ;

– elle offre un élément d'explication à l'ubiquité des effets délétères de l'hyperhomocystéinémie puisque, lorsque celle-ci provient d'un défaut de reméthylation de l'Hcy, elle peut être associée à diverses pathologies, telles que les défauts de fermeture du tube neural ou certains troubles neurologiques ;

– elle pose le problème du rôle respectif des composantes intra- et extracellulaires de l'Hcy dans son athérogénicité. En effet, les études cliniques n'ont pas permis de déterminer si la toxicité de l'hyperhomocystéinémie provient de l'accumulation intracellulaire et/ou plasmatique de l'Hcy. De la même manière, *in vitro*, la plupart des auteurs ont étudié les effets cellulaires de l'Hcy en incubant des cellules avec des concentrations croissantes d'Hcy dans le milieu de culture. Or, *in vivo*, l'Hcy est un produit du métabolisme intracellulaire et les mécanismes de transport de l'Hcy à travers la membrane plasmique sont mal connus. En d'autres termes, on ne sait pas s'il existe des récepteurs cellulaires à l'Hcy extracellulaire, pouvant être à l'origine de seconds messagers intracellulaires responsables de ses effets athérogènes, s'il existe des réponses cellulaires délétères consécutives à une interaction non spécifique de l'Hcy avec la membrane cellulaire, ou encore si la toxicité de l'Hcy s'exprime

d'emblée au niveau intracellulaire.

## Conclusions et perspectives

Cette revue des connaissances et des interrogations concernant la pathogénicité de l'hyperhomocystéinémie ouvre des perspectives en matière de détection, de prévention et de traitement des pathologies CV associées à l'hyperhomocystéinémie. Actuellement, en matière de détection, la recherche systématique d'une hyperhomocystéinémie n'est pas conseillée lors du bilan standard de dépistage des sujets à risque CV [41]. En revanche, la détermination conjointe de l'homocystéinémie et du statut vitaminique, chez des sujets à haut risque CV, ou chez des patients ayant présenté des manifestations cliniques de pathologies CV non expliquées par les facteurs de risque « classiques », pourrait permettre d'améliorer le suivi ultérieur. En effet, la prévention primaire et secondaire des maladies CV liées à l'hyperhomocystéinémie pourrait être optimisée par une prise en charge des sujets hyperhomocystéinémiques mieux adaptée à leur profil individuel, comme cela est déjà le cas pour les sujets hypercholestérolémiques ou hypertendus.

Les sujets présentant une hyperhomocystéinémie isolée pourraient bénéficier d'une prise en charge spécifique, visant à normaliser l'homocystéinémie. Dans l'hypothèse d'une action initialement intracellulaire de l'Hcy, les traitements visant à compléter en vitamines du groupe B (qui diminuent l'homocystéinémie en empêchant initialement l'accumulation intracellulaire d'Hcy) devraient s'accompagner d'un bénéfice clinique. Dans l'hypothèse d'une action toxique de l'augmentation de la concentration plasmatique en Hcy, l'utilisation d'une thérapeutique à base de N-acétylcystéine (qui diminue directement l'homocystéinémie en augmentant l'élimination hépatique et rénale d'Hcy), pourrait représenter une alternative intéressante.

Les sujets ayant un profil multirisque pourraient bénéficier d'une prise en charge plus globale, visant à prévenir l'altération de la fonctionnalité endo-

théliale par l'Hcy et, éventuellement, par certains autres facteurs de risque CV. Cette prise en charge pourrait correspondre à l'amélioration des défenses cellulaires en renforçant le statut anti-oxydant de l'organisme. Ainsi, il a été récemment démontré qu'un pré-traitement par la vitamine C et/ou la vitamine E, visant à prévenir les effets oxydants de l'Hcy, diminuait l'altération de la fonctionnalité endothéliale induite par une hyperhomocystéinémie consécutive à une charge en méthionine [21, 23]. Ces résultats sont prometteurs, puisque le traitement proposé devrait permettre de lutter non seulement contre certains effets délétères de l'Hcy, mais également contre les effets délétères des LDL liés à leur modification oxydative. Une autre démarche de prévention pourrait correspondre à la protection de cibles moléculaires en cours d'identification. L'une des voies de recherche actuelles, spécifiquement centrée sur les effets délétères de l'hyperhomocystéinémie, vise à déterminer un moyen de préserver les capacités de méthylation cellulaire en cas d'altération du métabolisme de l'Hcy; ce moyen pourrait correspondre à l'administration de SAM. Enfin, un autre axe de recherche, considérant des effets délétères communs à différents facteurs de risque CV, vise à préserver l'intégrité de telle ou telle fonction spécifique des cellules endothéliales en agissant directement au niveau de la transcription de certains gènes. Il est ainsi possible d'inhiber la transcription des gènes sous contrôle de NF-kB en introduisant des séquences leurres de ce facteur de transcription en excès au niveau endothélial. De telles expériences ont montré que des oligonucleotides NF-kB inhibaient l'adhérence des polynucléaires neutrophiles sur les cellules endothéliales [42]. Des études similaires peuvent être envisagées pour d'autres facteurs de transcription. A ce titre, le facteur AP-1 représente une cible moléculaire particulièrement intéressante puisqu'il participe à la régulation de la transcription du gène de la préproendothéline-1, dont l'expression est modifiée par l'Hcy et par les LDL [43]. L'utilisation de séquences leurres AP-1 pourrait donc s'intégrer dans une stratégie visant à neutraliser simultanément les effets délétères de l'hyper-

homocystéinémie et de l'hypercholestérolémie sur la fonction endothéliale de régulation du tonus vasculaire. Ces différents axes de recherche devraient permettre de développer des approches thérapeutiques plus efficaces que la correction individuelle de chacun des facteurs de risque CV, puisque la correction spécifique d'un premier facteur de risque favorise parfois l'émergence d'un deuxième [44] ■

## RÉFÉRENCES

- Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 7th ed. Vol. 1. New York: Mc Graw-Hill Book Co, 1995: 1270-327.
- Mc Cully KS. Homocysteine theory of arteriosclerosis: development and current status. Gotto AM, Paolletti R, eds. *Atherosclerosis Rev* 1983; 11: 157-246.
- Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-57.
- Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 81: 165-76.
- Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS. Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 1998; 351: 36-7.
- Demuth K, Moatti N, Hanon O, Benoit MO, Safar M, Girerd X. Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid artery geometry in asymptomatic adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1838-43.
- Omenn GS, Beresford SAA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease. B vitamins and homocysteine. *Circulation* 1998; 97: 421-4.
- Olszewski AJ, Mc Cully KS. Homocysteine metabolism and the oxidative modification of proteins and lipids. *Free Rad Biol Med* 1993; 14: 683-93.
- Hirano K, Ogihara T, Miki M, et al. Homocysteine induces iron-catalyzed lipid peroxidation of low-density lipoprotein that is prevented by alpha-tocopherol. *Free Rad Res* 1994; 21: 267-76.
- Naruszewicz M, Mirkiewicz E, Olszewski AJ, Mc Cully KS. Thiolation of low-density lipoprotein by homocysteine thiolactone causes increased aggregation and altered interaction with cultured macrophages. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1994; 4: 70-7.
- Voutilainen S, Morrow JD, Jackson Roberts L, et al. Enhanced *in vivo* lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1263-6.
- Cordoba-Porras A, Sanchez-Quesada JL, Gonzalez-Sastre F, Ordonez-Llanos J, Blanco-Vaca F. Susceptibility of plasma low- and high-density lipoproteins to oxidation in patients with severe hyperhomocysteinemia. *J Mol Med* 1996; 74: 771-6.
- Halvorsen B, Brude I, Drevon CA, et al. Effect of homocysteine on copper ion-catalyzed, azo compound-initiated, and mononuclear cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Lipid Res* 1996; 37: 1591-600.
- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
- Wang J, Dudman NP, Wilcken DE. Effects of homocysteine and related compounds on prostacyclin production by cultured human vascular endothelial cells. *Thromb Haemost* 1993; 70: 1047-52.
- Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue-factor activity in endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1327-33.
- Harpel PC, Chang VT, Borth W. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein(a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis, and sulfhydryl compound metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10193-7.
- Demuth K, Atger V, Borderie D, et al. Homocysteine decreases endothelin-1 production by cultured human endothelial cells. *Eur J Biochem* 1999; 263: 367-76.
- de Jong SC, Stehouwer CDA, van den Berg M, Vischer UM, Rauwerda JA, Emeis JJ. Endothelial marker proteins in hyperhomocysteinemia. *Thromb Haemost* 1997; 78: 1332-7.
- de Valk-De-Roo GW, Stehouwer CDA, Lambert J, et al. Plasma homocysteine is weakly correlated with plasma endothelin and von willebrand factor but not with endothelin-dependent vasodilatation in healthy postmenopausal women. *Clin Chem* 1999; 45: 1200-5.
- Nappo F, De Rosa N, Marfella R, et al. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 1999; 281: 2113-8.
- van Den Berg M, Boers GHJ, Franken DG, et al. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 176-81.
- Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Obeid OA, Kooner JS. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia. An effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation* 1999; 99: 1156-60.
- Tsai JC, Wang H, Perrella MA, et al. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1996; 97: 146-53.
- Tyagi SC, Smiley LM, Mujumdar VS, Clonts B, Parker J. Reduction-oxidation (redox) and vascular tissue level of homocyst(e)ine in human coronary atherosclerotic lesions and role in extracellular matrix remodeling and vascular tone. *Mol Cell Biochem* 1998; 181: 107-16.
- Demuth K, Myara I, Chappey B, et al. A cytotoxic electronegative LDL subfraction is present in human plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 773-83.
- Koch HG, Goebeler M, Marquardt T, Roth J, Harms E. The redox status of amino thiols as a clue to homocysteine-induced vascular damage? *Eur J Pediatr* 1998; 157, Suppl 2: S102-6.
- Ueland PM, Mansoor MA, Guttormsen AB, et al. Reduced, oxidized and protein-bound forms of homocysteine and other amino thiols in plasma comprise the redox thiol status - a possible element of the extracellular antioxidant defense system. *J Nutr* 1996; 126: 1281S-4S.
- Hultberg B, Andersson A, Isaksson A. The effects of homocysteine and copper ions on the concentration and redox status of thiols in cell line cultures. *Clin Chim Acta* 1997; 262: 39-51.
- Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, et al. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012-7.
- Wang H, Yoshizumi M, Lai K, et al. Inhibition of growth and p21<sup>ras</sup> methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. *J Biol Chem* 1997; 272: 25380-5.
- Outinen PA, Sood SK, Liaw PCY, et al. Characterization of the stress-inducing effects of homocysteine. *Biochem J* 1998; 332: 213-21.
- Jakubowski H. Metabolism of homocysteine thiolactone in human cell cultures. Possible mechanism for pathological consequences of elevated homocysteine levels. *J Biol Chem* 1997; 272: 1935-42.
- Suliman ME, Anderstam B, Lindholm B, Bergström J. Total, free, and protein-bound sulphur amino acids in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2332-8.
- Cobbaert C, Arentsen JC, Mulder P, Hoogerbrugge N, Lindemans J. Significance of various parameters derived from biological variability of lipoprotein(a), homocysteine, cysteine, and total antioxidant status. *Clin Chem* 1997; 43: 1958-64.
- Wiley VC, Dudman NPB, Wilcken DEL. Interrelations between plasma free and protein-bound homocysteine and cysteine in homocystinuria. *Metabolism* 1988; 37: 191-5.
- Hogg N. The effect of cyst(e)ine on the auto-oxidation of homocysteine. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 28-33.
- Lee ME, Wang H. Homocysteine and hypomethylation. A novel link to vascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 1999; 9: 49-54.

## RÉFÉRENCES

39. Gingras D, Boivin D, Bilodeau D, Pelletier J, Béliveau R. Les protéine carboxyle méthyltransférases des eucaryotes: deux classes distinctes d'enzymes. *Med Sci* 1994; 10: 55-64.

40. Tinton S, Buc-Calderon P. Inhibition of protein synthesis induced by adenine nucleotides requires their metabolism into adenosine. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 481-8.

41. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases. A statement for healthcare professionals from the nutrition committee, american heart association. *Circulation* 1999; 99: 178-82.

42. Kokura S, Wolf RE, Yoshikawa T, Granger DN, Aw TY. Molecular mechanisms of neutrophil-endothelial cell adhesion induced by redox imbalance. *Circ Res* 1999; 84: 516-24.

43. Unoki H, Fan J, Watanabe T. Low-density lipoproteins modulate endothelial cells to secrete endothelin-1 in a polarized pattern: a study using a culture model system simulating arterial intima. *Cell Tissue Res* 1999; 295: 89-99.

44. Dierkes J, Westphal S, Luley C. Serum homocysteine increases after therapy with fenofibrate or bezafibrate. *Lancet* 1999; 354: 219-20.

## Summary

### Hyperhomocysteinemia and atherosclerosis

Atherosclerosis is a multifactorial disease involving genetic and environmental determinants leading to arterial wall injury. Currently, the prevention and treatment of atherosclerosis consist in correcting traditional cardiovascular risk factors such as dyslipidaemia, hypertension and addiction to smoking. However, some subjects present atherosclerosis symptoms despite the absence of any traditional cardiovascular risk factors, and new causes for this disease have been searched and identified, among which hyperhomocysteinemia. Recent progress in the understanding of hyperhomocysteinemia atherogenicity has allowed to identify the molecular basis for some of homocysteine deleterious effects. The study of these mechanisms will undoubtedly reveal a number of new strategies to prevent atherosclerosis, through the lowering of homocysteinemia but also the protection of homocysteine molecular targets, using chemical and molecular reagents.

# FONDATION FYSSSEN

194, RUE DE RIVOLI - 75001 PARIS

TÉL.: 33 (0)1 42 97 53 16 - FAX: 33 (0)1 42 60 17 95

La FONDATION FYSSSEN a pour objectif général «de promouvoir sous toutes ses formes l'analyse scientifique des mécanismes logiques du comportement animal et humain ainsi que leur développement ontogénétique et phylogénétique».

## BOURSES D'ÉTUDES POST-DOCTORALES

La FONDATION FYSSSEN attribuera un certain nombre de **BOURSES D'ÉTUDES POST-DOCTORALES**.

Ces bourses doivent permettre la formation et le soutien de chercheurs de niveau post-doctoral travaillant dans des domaines de recherche qui répondent aux objectifs de la Fondation tels que l'éthologie, la paléontologie, l'archéologie, l'anthropologie, la psychologie, l'épistémologie, la logique et les sciences du système nerveux.

La Fondation souhaiterait soutenir plus particulièrement les recherches dans les domaines tels que:

**ÉTHOLOGIE ET PSYCHOLOGIE:** La nature et le développement des processus cognitifs chez l'homme et chez les animaux. Le déterminisme des comportements au cours de l'ontogenèse et leur évolution à travers la phylogenèse.

**NEUROBIOLOGIE:** Les études portant sur les bases neurobiologiques des processus cognitifs et de leur développement embryonnaire et post-natal ainsi que les mécanismes élémentaires qu'ils engagent.

**ANTHROPOLOGIE-ETHNOLOGIE:** L'étude:

- des systèmes de représentations des environnements naturels et des cultures. Analyse des principes de construction et des mécanismes de transmission de ces systèmes en mettant en évidence leurs aspects cognitifs;
- des systèmes techniques développés dans les diverses formes d'organisation sociale et analysés sous tous leurs aspects (savoirs, savoir-faire, mécanismes de transmission).

**PALÉONTOLOGIE HUMAINE - ARCHÉOLOGIE:** L'origine et l'évolution du cerveau humain et de ses productions.

Ces bourses d'un montant maximum de 120 000 F annuel seront réservées à des chercheurs français désirant se rendre dans des laboratoires étrangers et à des chercheurs étrangers venant travailler dans des laboratoires français. Elles s'adressent aux jeunes chercheurs, moins de 35 ans, et sont normalement d'une durée maximale d'un an; elles peuvent éventuellement être renouvelées.

Les demandes de bourses doivent être établies suivant un formulaire à demander à la Fondation de Septembre à Février. Les dossiers complets doivent être adressés en **15 exemplaires** au Secrétariat de la Fondation, 194, rue de Rivoli, 75001 PARIS.

**Date limite impérative de réception des dossiers: le 31 mars 2000.**

Seules seront prises en considération les demandes de bourses qui entrent explicitement dans les objectifs de la Fondation.

## PRIX INTERNATIONAL

Un PRIX INTERNATIONAL de 200 000 F est attribué à un chercheur qui s'est distingué par une activité de recherche fondamentale qui correspond, directement, ou indirectement à l'objectif de la Fondation et qui concerne des disciplines telles que l'éthologie, la paléontologie, l'archéologie, l'anthropologie, la psychologie, l'épistémologie, la logique et les sciences du système nerveux. Il a été décerné à MM. les Professeurs A. LEROI-GOURHAN (1980), W.H. THORPE (1981), V.P. MOUNTCASTLE (1982), H.C. CONKLIN (1983), R.W. BROWN (1984), P. BUSER (1985), D. PILBEAM (1986), D. PREMACK (1987), J.C. GARDIN (1988), P.S. GOLDMAN-RAKIC (1989), J. GOODY (1990), G.A. MILLER (1991), P. RAKIC (1992), L.L. CAVALLI-SFORZA (1993), L.R. GLEITMAN (1994), W.D. HAMILTON (1995), C. RENFREW (1996), M. JOUVET (1997) et A. WALKER (1998).

**Discipline pour le Prix International 2000:**

**«INTENTIONNALITÉ ET PLANIFICATION DE L'ACTION»**

Les propositions de candidature doivent comporter:

- le curriculum vitæ,
- la **liste** des publications du candidat,
- un résumé (quatre pages maximum) du travail de recherche qui justifie l'attribution du Prix.

On ne peut se porter directement candidat. La candidature doit impérativement être présentée par une personnalité scientifique reconnue et être adressée en **15 exemplaires** au Secrétariat de la Fondation, 194, rue de Rivoli, 75001 PARIS.

**Date limite des propositions de candidature: le 31 OCTOBRE 2000.**