

## Sclérose en plaque et rétrovirus de la famille HTLV

L'intervention d'agents infectieux dans le déclenchement de la sclérose en plaque paraît bien probable depuis la mini-épidémie observée en 1940 dans les îles Færøes où la maladie n'existait pas jusque-là et semble avoir été introduite par les troupes britanniques placées en garnison au début de la guerre. La nature de l'infection supposée être virale reste cependant énigmatique, de nombreuses pistes s'étant révélées fausses dans le passé. En 1981 par exemple, Asheby Haase et al. (*Science* 1981; 212 : 672) rapportaient la présence d'ARN du virus de la rougeole dans le cerveau des malades, ce qui constituait une piste d'autant plus intéressante que le titre des anticorps dirigés contre ce virus est souvent élevé chez les sujets atteints de sclérose en plaque. Rapidement cependant, il apparaissait que l'ARN viral était également souvent retrouvé dans le cerveau de sujets présentant une toute autre pathologie.

Dans un numéro de *Nature* de novembre 85, Koprowski et al., associés à l'équipe du professeur Gallo

[1], montrent que dans deux groupes de malades, l'un issu de Suède et l'autre de Floride, on trouve fréquemment dans le sang et le liquide céphalo-rachidien des anticorps reconnaissant des épitopes antigéniques des virus HTLV I, II et III (ce dernier étant l'homologue du virus LAV). De plus, dans un très petit pourcentage de cellules cultivées à partir du cerveau de malades, les auteurs détectent un ARN qui montre une faible homologie avec celui du virus HTLV I.

A partir de ces quelques éléments, Koprowski et al. suggèrent qu'un rétrovirus humain apparenté aux virus HTLV pourrait être impliqué dans la maladie; cette hypothèse s'intégrerait bien dans les atteintes cérébrales dont sont responsables les lentivirus, comme le virus de Visna et parfois le virus du Sida (HTLV III/LAV). Les relations entre ces familles virales sont commentées dans un précédent numéro de médecine/sciences (Nouvelle n° 8, vol. 1, p. 445).

Les résultats publiés restent cependant à ce jour très incertains et méritent pour le moins des confirmations ultérieures. Il est en effet troublant que les anticorps les plus fréquemment retrouvés reconnaissent des antigènes d'HTLV I, alors que c'est bien le virus HTLV III/LAV qui semble le plus « neurotrope ». Les titres d'anticorps mesurés ne sont en outre pas plus élevés que ceux des anticorps antimorbilleux (dirigés contre le virus de la rougeole) ou anti-EBV (virus d'Epstein-Barr). Quant à l'ARN détecté, son expression est extrêmement faible.

Enfin, les contrôles « négatifs » se limitent pour l'instant à deux sujets sains qui n'ont pas de tels ARN dans les cellules de leur liquide céphalo-rachidien. Nous nous faisons donc l'écho d'une hypothèse intéressante proposée par une équipe de scientifiques de très haut niveau, en étant bien conscients que cette hypothèse reste à confirmer.

A.K

1. Koprowski H, De Freitas EC, Harper ME, et al. Multiple sclerosis and human T-cell lymphotropic retroviruses. *Nature* 1985; 318 : 154-60.

## Empreintes individuelles D'ADN (suite)

Une nouvelle parue dans *médecine/sciences* n° 6, vol. 1, p. 333 annonçait la mise au point par des chercheurs britanniques d'un système d'« empreintes individuelles d'ADN ». Rappelons que le principe de la technique est basé sur ce que les auteurs appellent des minisatellites, formés d'unités répétitives existant en nombre variable selon les individus et qui peuvent être reconnus par des sondes d'ADN rendues radioactives. L'analyse du génome se fait par la méthode de *Southern* (cf. *lexique* n° 2, vol. 2, p. 104); pour chaque ADN humain on compte de 40 à 60 bandes qui peuvent être informati-

ves. Nous laissons prévoir des progrès à très brève échéance : ils se sont montrés explosifs, en résultats et en publications [1-3].

Un premier article, paru en octobre 85, traitait d'un cas [1] unique mais complexe. Il relatait l'histoire d'un jeune Ghanéen, né et vivant en Grande-Bretagne avec sa mère, un frère et deux sœurs. Au retour d'une visite à son père résidant au Ghana, l'entrée lui fut refusée car les autorités flairaient une substitution. Les tests conventionnels concluaient à 99 % de chances que le jeune homme soit apparenté à la famille, mais ne pouvaient aller plus loin. La mère affirmait qu'il était son fils

mais ne se montrait pas catégorique quant à la paternité; pour simplifier, il courait une rumeur suggérant qu'il était bien le fils du mari, mais que sa mère serait une sœur de l'épouse, restée au pays... Jeffreys et coll, modernes Salomons, ne proposèrent pas de couper le jeune homme en deux; ils se bornèrent à lui prélever 1 ml de sang, ainsi qu'aux autres membres de la famille. Le travail consista d'abord à reconstituer l'image du père absent; on put la déduire de la confrontation des empreintes d'ADN de la mère avec celles des 3 autres enfants dont la mère affirmait la légitimité. Il restait à comparer les empreintes

du jeune homme à celles des 2 parents : l'analyse s'avéra assez convaincante aux yeux des autorités d'immigration pour qu'elles accordent le permis de séjour. Conclusion des auteurs : leur méthode permet d'établir une relation de paternité, parfois même « in absentia ».

Un article de *Lancet* [2] paru en décembre 85, s'attaque au problème des jumeaux, mono ou dizygotes. La question est simple si les nouveau-nés sont de sexe différent ou si, au contraire, il n'existe qu'un sac amniotique. Mais d'après l'analyse de la littérature faite par les auteurs, dans 50 % des cas, les jumeaux sont de même sexe, l'amnios et le chorion sont doubles et l'on ne peut conclure. Les tests employés jusqu'à présent sont multiples, complexes et laissent une marge d'erreur non négligeable. Au contraire, les empreintes d'ADN devraient donner une réponse formelle : les jumeaux monozygotes ont des bandes identiques; s'ils sont dizygotes, il n'y a qu'une chance sur  $10^8$  pour qu'il en soit ainsi. La méthode a été appliquée à 12 paires

de jumeaux, la validité étant immédiatement testable sur 7 d'entre elles (2 placentas monochorioniques et 5 paires de sexes différents). Elle a été aussi employée sur des triplés nés de deux femmes traitées par des médicaments inducteurs de fertilité; dans les deux cas les triplés étaient tous différents.

Un dernier article de médecine légale explore la possibilité d'identifier des taches de sang et de sperme [3]. Les auteurs ont pu extraire de l'ADN non dégradé (indispensable pour la validité de la méthode) de taches datant de plusieurs mois, et même de quelques années, et parvenir à une identification avec les mêmes sensibilité et précision que sur les fluides frais. Il est également possible, après un viol remontant à quelques heures, d'en identifier le responsable à partir d'un prélèvement vaginal. Dans ce cas il faut d'abord éliminer l'ADN de la femme, majoritaire, par lyse préférentielle, les spermatozoïdes étant plus résistants à la lyse par certains détergents. La sensibilité de la technique est devenue telle qu'il

suffit de 5 microlitres de sperme ou de 60 microlitres de sang pour réaliser une analyse complète.

En quelques semaines donc, une moisson exceptionnelle de résultats a été engrangée. Les méthodes seront bientôt utilisables pratiquement en médecine légale et devraient, selon les auteurs, révolutionner celle-ci. Il faudra toutefois les confronter dans un premier temps, aux techniques actuellement en usage ainsi qu'à d'autres méthodes utilisant l'ADN mais qui paraissent moins sensibles et moins générales. Les sondes feront probablement l'objet de brevets et devraient être disponibles d'ici quelques mois, la commercialisation passant par le « Lister Institute ».

**J.C.D.**

1. Jeffreys AJ, Brookfield JFW, Semconoff R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature* 1985; 317: 808-9.
2. Hill AVS, Jeffreys AJ. Use of minisatellite DNA probes for determination of twin zygosity at birth. *Lancet* 1985; ii: 1394-5.
3. Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA "fingerprints". *Nature* 1985; 318: 577-9.

## **E**purat[i]on enzymatique de la bilirubine sanguine

*Les traitements courants de l'ictère sévère du nouveau-né sont la photothérapie et surtout l'exsanguinotransfusion. Quoique très efficace, cette dernière n'est pas dépourvue d'inconvénients, en particulier liés aux craintes qu'inspirent actuellement les contaminations virales.*

Lavin et coll. (Boston) [1] ont eu l'idée d'éliminer spécifiquement la bilirubine sanguine par une méthode enzymatique. Ils ont utilisé une préparation de bilirubine oxydase extraite de *Myrothecium verrucaria*, qui transforme la bilirubine en biliverdine puis en d'autres produits d'oxydation mal identifiés. Ils ont testé l'innocuité de ces composés aux points de vue tératogène, mutagène et cytotoxique.

La technique est relativement simple : l'enzyme est immobilisée par fixation covalente sur des billes d'agarose et possède dans ces conditions une demi-vie d'activité de 60 heures. Elle est insérée dans une colonne en verre reliée à une pompe péristaltique et

maintenue à une température physiologique; la colonne est lavée avant usage par une solution isotonique stérile contenant de l'héparine. Ce réacteur a été testé jusqu'à présent sur des solutions de bilirubine liée à de la sérum albumine humaine, sur du sang humain *in vitro* et, *in vivo*, sur des rats Gunn. Rappelons que les rats Gunn présentent un déficit en glucuronyltransférase et ont un taux de bilirubine plasmatique oscillant autour de 300  $\mu$ M (environ 175 mg par litre). On sait par ailleurs que le seuil de bilirubinémie exigeant une exsanguinotransfusion est généralement fixé à 200 mg par litre chez le nouveau-né à terme et plus bas chez le prématuré. Les résultats paraissent probants : *in vitro*, un passage unique sur la colonne fait disparaître 90 % de la bilirubine, le plasma passant du jaune au vert foncé. Chez les rats Gunn, le taux de bilirubine diminue de moitié en 30 minutes; l'équilibre ionique et le niveau des principaux métabolites

sont très peu modifiés; la seule perturbation est une hémolyse modérée, que des améliorations techniques devraient maîtriser, notamment en ajoutant de l'héparinase immobilisée au réacteur. Cette technique d'épuration extracorporelle très sélective et relativement peu encombrante présente des avantages sur l'exsanguinotransfusion et les autres méthodes d'adsorption. Les auteurs espèrent qu'elle pourra bientôt être appliquée avec succès au traitement de l'ictère sévère du nouveau-né. Ils pensent en outre que son emploi aidera à généraliser le concept des réacteurs à enzyme, susceptibles de débarrasser spécifiquement le sang de malades de substances toxiques endogènes ou exogènes.

**J.-C. D.**

1. Lavin A, Sung C, Klivanov AM, Langer R. Enzymatic removal of bilirubin from blood: a potential treatment for neonatal jaundice. *Science* 1985; 230: 543-5.