

Des mutations de la chaîne lourde des myosines cardiaques à l'origine de cardiomyopathies hypertrophiques familiales

La cardiomyopathie hypertrophique familiale (*familial hypertrophic cardiomyopathy*, FHC) est une affection à transmission autosomique dominante, qui entraîne souvent une mort précoce. La masse du tissu cardiaque est augmentée et les myofibrilles désorganisées, avec une grande variabilité individuelle. En 1989 [1], un *locus* de la FHC fut individualisé ; il se révéla lié étroitement aux gènes de la chaîne lourde de la myosine cardiaque [2]. On sait que les gènes des chaînes lourdes de la myosine forment une famille complexe, ceux du type muscle strié étant portés par le chromosome 17 et ceux du type cardiaque par le 14. Les gènes α et β de la myosine cardiaque sont arrangés en tandem sur la bande q11-q13, séparés seulement par 4,5 kb. Chacun d'eux compte 40 exons sur 30 kb d'ADN, et code pour un polypeptide de 220 kDa. L'homologie entre α et β est très grande, de 95 % environ ; on connaît la séquence complète de β [3] mais pas encore celle de α .

Des équipes de Boston (MA, USA), collaborant avec des chercheurs de Heidelberg (RFA) et de Londres (GB) [4, 5], ont mis en évidence l'existence d'anomalies moléculaires dans deux familles de malades. Les méthodes de base consistaient à découvrir des polymorphismes de restriction dans le gène et à démontrer que certains allèles ségrégent avec la maladie.

• La première famille, d'origine franco-canadienne [5], se composait d'une soixantaine de membres sur trois générations. Sur 6 polymorphismes de restriction, reconnus par l'utilisation de 20 enzymes, un seul, obtenu par l'enzyme Ddel, comigrerait

régulièrement avec l'allèle atteint. Il était absent chez 100 témoins. La carte de restriction d'un clone codant pour la région contenant le site Ddel indiquait qu'il s'agissait de l'exon 13 de la chaîne β de la myosine cardiaque ; une mutation d'une G en A provoquait le changement d'une arginine en glutamine en position 403. L'importance de cette arginine est attestée par sa persistance, vérifiée sur 15 espèces allant d'une amibe à l'homme. L'exon 13 se trouve encore dans la région initiale de la molécule, faite d'une tête globulaire contenant l'activité ATPase.

• La deuxième famille, d'origine non mentionnée, englobait 25 personnes, dont 19 furent analysées [4]. Un polymorphisme de restriction obtenu avec l'enzyme BamHI montrait un fragment unique, ségrégeant avec FHC chez tous les sujets atteints, et absent chez les membres indemnes de la famille comme chez les

200 témoins. L'analyse de l'anomalie fut difficile, car tous les polypeptides normaux étaient présents en quantités normales. Toutefois, chez les malades, il apparaissait une chaîne supplémentaire dont on put démontrer que la partie 5' était du type α et la partie 3' du type β . Il s'agissait donc d'une protéine de fusion, dont le mécanisme de formation probable (*figure 1*) est celui d'un *crossing over* inégal. On voit qu'ici l'allèle porteur de l'hybride contient aussi les chaînes normales α et β . Un tel phénomène est connu pour l'hémoglobine P (anti-Lepore) contenant un hybride β/δ flanqué des gènes normaux δ et β , alors que dans l'Hb Lepore (hybride δ/β), les gènes normaux δ et β sont délétés. La fusion a lieu dans l'exon 27 qui se trouve sur la tige de la myosine au niveau de la « charnière » (*hinge*), à 80 kDa de l'extrémité C-terminale. Plusieurs questions restent posées.

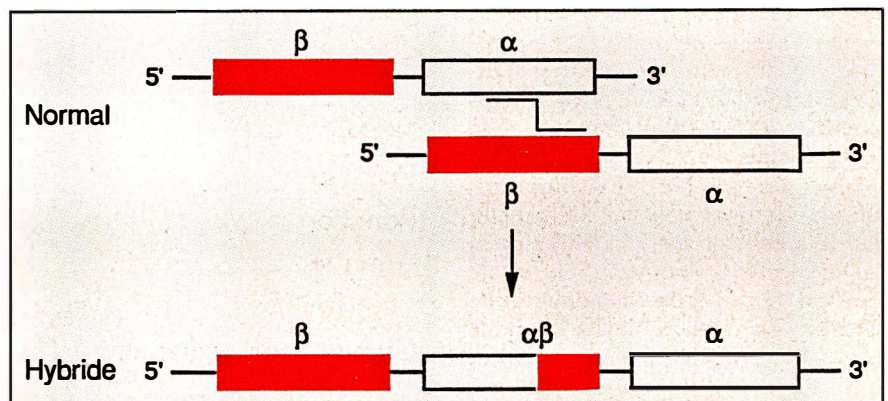


Figure 1. Formation d'un gène hybride par *crossing over* inégal avec conservation des chaînes normales. D'après [4].

a) Le problème habituel du mécanisme pathologique des maladies dominantes n'a pas de solution évidente, alors qu'un des allèles est normal ; on peut ici faire l'hypothèse que la présence de chaînes anormales désorganise l'ensemble du dispositif de la myosine. Le caractère délétère de ces chaînes anormales doit même être tel que la présence d'un allèle anormal (le gène hybride α/β) est dominant sur deux allèles normaux, celui de l'autre chromosome et celui dupliqué sur le chromosome porteur de la lésion.

b) Les chaînes α de la myosine cardiaque sont exprimées seulement dans le cœur ; en revanche, les chaînes β le sont aussi dans le muscle strié. Les anomalies que nous venons de décrire devraient pouvoir retentir sur la fonction musculaire, de même que l'absence de dystrophine dans la myopathie de Duchenne retentit sur le cœur ; de fait, la fonction musculaire est perturbée chez certains

malades atteints de FHC mais non chez tous.

c) Les deux exemples décrits ci-dessus montrent déjà l'hétérogénéité des lésions moléculaires. Il est très probable que cette hétérogénéité est beaucoup plus vaste encore, et il se pourrait qu'elle débordât le cadre du chromosome 14 [7].

d) Enfin, des changements dans l'expression des gènes de myosine pourraient jouer un rôle dans des hypertrophies cardiaques secondaires à d'autres maladies. Peut-être le facteur le plus important serait-il le rapport des taux des chaînes α et β ?

J.-C.D.

1. Jarcho JA, McKenna W, Pare JAP, et al. Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14 q1. *N Engl J Med* 1989 ; 321 : 1372-8.

2. Solomon SD, Geiterfer-Lowrance AAT, Vosberg HP, et al. A locus for familial hypertrophic cardiomyopathy is closely linked to the cardiac myosin heavy chain genes on chromosome 14 at q11-q12. *Am J Hum Genet* 1990 ; 47 : 389-94.

3. Jaenicke T, Diederich KW, Haas W, et al. The complete sequence of the human β -myosin heavy chain gene and an analysis of its product. *Genomics* 1990 ; 8 : 194-206.

4. Tanigawa G, Jarcho JA, Kass S, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy : an α/β cardiac myosin heavy chain hybrid gene. *Cell* 1990 ; 62 : 991-8.

5. Geisterfer-Lowrance AAT, Kass S, Tanigawa G, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy : a β cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell* 1990 ; 62 : 999-1006.

6. Caforio ALP, Rossi B, Risaliti R, et al. Type 1 fiber abnormalities in skeletal muscle of patients with hypertrophic and dilated cardiomyopathy : evidence of subclinical myogenic myopathy. *J Am Coll Cardiol* 1989 ; 14 : 1464-73.

7. Solomon SD, Jarcho JA, McKenna W, et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy is a genetically heterogeneous disease. *J Clin Invest* 1990 ; 86 : 993-9.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ Un même auto-antigène dans le diabète insulino-dépendant et un syndrome neurologique : l'acide glutamique décarboxylase. L'un des auto-antigènes principaux des cellules β de Langerhans, cible du processus d'agression auto-immune des îlots endocrines du pancréas dans le diabète de type I, est une protéine de 64 kDa. Des auto-anticorps anti-64 kDa sont détectés dans 80 % des diabètes insulino-dépendants, parfois plusieurs années avant le déclenchement du diabète. Par ailleurs, existe une maladie neurologique rare dont *m/s* a déjà parlé, appelée « le syndrome des hommes raides » (*stiff-man syndrome*) dans laquelle sont retrouvés des auto-anticorps dirigés contre l'enzyme GAD (*glutamic acid decarboxylase*), dernière enzyme de synthèse d'un neurotransmetteur essentiel, le GABA

(*gamma aminobutyric acid*). Les patients affectés de cette maladie ont également assez souvent un diabète plus ou moins sévère, ce qui a amené des équipes associées américaines (San Francisco, CA ; New Haven, CT), italienne (Milan) et danoise (Gentofte) à rechercher s'il existait des auto-antigènes communs dans les deux affections [1]. De fait, les auto-anticorps des malades atteints de « syndrome des hommes raides » reconnaissent également la protéine de 64 kDa des cellules β , alors que les anticorps anti-64 kDa reconnaissent très spécifiquement la GAD. Des anticorps anti-GAD couplés à une révélation fluorescente marquent intensément les cellules β du pancréas, mais non les cellules productrices du glucagon (cellules A) et de somatostatine (cellules C).

Il est probable que la GAD, que ce

soit dans le pancréas ou dans le cerveau, n'est pas prioritairement une protéine de surface ; elle pourrait plutôt se comporter comme un auto-antigène *via* la présentation de ses peptides par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité. L'absence d'association systématique entre le diabète et le *stiff-man syndrome* peut être expliquée par les différences d'expression des molécules du CMH par les neurones et les cellules β , et par les particularités de la barrière hémato-encéphalique.

[1. Baekkeskov S, et al. *Nature* 1990, 347 : 151-6.]

■■■ **Ciclosporine et cirrhose biliaire primitive : ré-évaluation d'une thérapeutique.** Bien que la pathogénie de la cirrhose biliaire primitive reste inconnue, les mécanismes immunologiques y semblent prépondérants, comme le suggèrent la fréquence des maladies auto-immunes associées, la multiplicité des anticorps présents, la diminution de la fonction T-suppressive, la ressemblance histopathologique frappante entre cirrhose biliaire primitive et rejet de greffe hépatique : la cible du conflit immunologique serait le canal biliaire interlobulaire ; l'activation des lymphocytes CD4 des espaces portes pourrait être la conséquence de la présence sur les canaux biliaires d'un néo-antigène (de nature infectieuse, toxique ou médicamenteuse) associé aux molécules HLA de classe II ; ce néo-antigène pourrait être viral ou bactérien, de nature toxique ou médicamenteuse. Jusqu'à présent, la plupart des médicaments évalués dans cette maladie (azathioprine, D-pénicillamine, chlorambucil, corticoïdes, colchicine, ciclosporine) ont eu une efficacité thérapeutique faible ou nulle, et/ou des effets indésirables majeurs. En revanche, l'acide ursodésoxycholique semble transformer le pronostic de la maladie chez des patients traités tôt. Une équipe nord-américaine de la Mayo Clinic [1] vient de suggérer que la ciclosporine à faible dose (4 mg/Kg/j) est efficace à un et deux ans, par comparaison à un placebo, dans le traitement de la cirrhose biliaire primitive : à un an, elle améliore significativement les signes cliniques et biologiques (phosphatasémie alcaline, titre d'anticorps anti-mitochondries) ; à deux ans, elle s'associe à une stabilité des lésions histologiques. L'intérêt de ces résultats est qu'ils suggèrent que la ciclosporine serait efficace à plus long terme qu'indiqué dans les publications antérieures, notamment sur les lésions anatomiques de la maladie ; la fréquence des effets secondaires (élévation de la créatininémie et/ou diminution de la clairance de l'iothalamate dans 63 % et 47 % des cas

respectivement, élévation modérée mais significative de la pression artérielle), bien que régressifs à la diminution ou à l'arrêt du traitement, justifie une parfaite modulation des doses employées, quoique celles-ci soient faibles. Finalement, c'est toujours avec une certaine impatience que l'on attend les résultats d'essais contrôlés actuels sur les effets de l'acide ursodésoxycholique sur les lésions histologiques de la maladie, car la bonne tolérance de ce médicament et son efficacité déjà établies sur les signes biochimiques et cliniques semblent en faire un des grands acquis de ces dernières années dans le domaine.

[1. Wiesner RH, *et al. N Engl J Med* 1990 ; 322 : 1419-24.]

■■■ **L'identification d'un mot par le cerveau** pourrait s'effectuer au travers de mécanismes divers et hiérarchisés. Au cours de la lecture, nous éliminons automatiquement d'une recherche sémantique des séries consécutives de lettres qui « ne peuvent pas » faire un mot dans la langue utilisée (en français JFOVC par exemple). La situation n'est pas la même avec ce que l'on appelle des « pseudo-mots », c'est-à-dire des séries de lettres qui « pourraient » former un mot, mais ne le font pas (par exemple TOGGLE). Petersen *et al.* [1] ont utilisé la tomographie par émission de positons après injection d'eau marquée au ¹⁵O pour définir les régions du cortex cérébral activées lors de la présentation de quatre types de messages : des « vrais » mots, des « pseudo-mots », des « non-mots » et des séries de signes sans valeur de lettres. Ils ont ainsi identifié une région postérieure de l'hémisphère gauche (dominant pour le langage) qui est activée lors de la lecture des vrais et pseudo-mots, mais pas pour les autres. Cette région fait partie de ce que l'on appelle les aires visuelles secondaires, c'est-à-dire qu'elle intervient sans doute très pré-

cocément dans le traitement de l'information. Dès ce stade, il existe donc déjà une séparation entre les processus accompagnant l'identification d'un message potentiellement signifiant et les autres. Comme la possibilité de signification dépend de la langue utilisée, il faut admettre que cette région du cortex visuel a acquis des capacités de décodage au cours de l'apprentissage. La reconnaissance du mot lui-même s'effectue cependant à un autre niveau et les mêmes auteurs ont identifié dans la région frontale inférieure gauche une zone corticale spécifiquement activée lors de la présentation des vrais mots, et non plus des pseudo-mots. Des régions différentes du cortex cérébral interviendraient ainsi, entre la simple vision et l'interprétation du sens du mot lu, dans une chaîne hiérarchisée de traitement du message potentiellement signifiant. De la mise en œuvre coordonnée de ce réseau dépendrait finalement la fonction que nous reconnaissons, la lecture.

[1. Petersen SE, *et al. Science* 1990 ; 249 : 1041-4.]

■■■ **Le traitement de la maladie de Parkinson par neurochirurgie destructrice** a eu son heure de gloire, il y a de cela quelques décennies. Des lésions thalamiques, et même striatales, ont été tentées chez de nombreux malades. Ces traitements ont été abandonnés lorsque des traitements moins invasifs ont été mis en œuvre, par la L-DOPA par exemple. La chirurgie destructrice n'avait, en réalité, qu'une efficacité faible à long terme sur la maladie et la destruction d'un groupe de neurones impliqués dans le contrôle du tonus musculaire ou du mouvement n'avait, évidemment, pas que des effets bénéfiques. On peut donc être surpris par les conclusions d'un travail expérimental présenté récemment par la revue *Science* sur l'effet de destructions du noyau subthalamique [1]. Les auteurs présentent des

résultats obtenus après lésion subthalamique chez deux singes (apparemment non couplés à des contrôles) rendus parkinsoniens par injection systémique de MPTP. Sacrifiés quelques semaines seulement après la lésion (3 semaines pour l'un des deux !), ces deux singes auraient présenté des améliorations cliniques substantielles de tous les symptômes de la maladie. Aussi positifs seraient-ils — ce que la présentation ne permet pas vraiment de déterminer — ces résultats nécessiteraient d'être retrouvés dans une série assez large et surtout après des temps de survie beaucoup plus longs pour qu'on puisse imaginer en tirer la moindre conclusion sur un plan expérimental. Quant au plan clinique, la conclusion des auteurs suggérant « une application potentielle comme traitement de la maladie de Parkinson » n'est tout simplement pas recevable.

[1. Bergman H, *et al. Science* 1990 ; 249 : 1436-8.]

■■■■ Maladie d'Alzheimer et génétique. Un effort considérable a été entrepris par une cinquantaine de chercheurs de nombreux pays pour tenter de préciser la génétique de la maladie d'Alzheimer [1]. Le travail a porté sur 48 familles présentant une hérédité autosomique dominante. Il se fondait sur la transmission de 5 marqueurs polymorphes, faisant partie de 3 loci distincts, situés sur la partie proximale du bras long du chromosome 21. A vrai dire, les conclusions ne diffèrent guère de celles fournies par des rapports antérieurs (*m/s n° 5, vol. 3, p. 254 et 256*) et ne font que les renforcer : une liaison significative existe pour les formes familiales avec deux marqueurs du 21, D21S1/S11 et D21S13/S16. Le *lod score*, qui indique la possibilité d'une liaison génétique, dépasse de peu la limite conventionnelle de + 3,00. Si, parmi les *pedigrees*, on examine uniquement les 30 d'entre eux qui ont un début « précoce » (avant 65 ans), le *lod score* monte à

4,50. En revanche, confirmant là aussi les résultats antérieurs, aucune liaison n'est observée dans les formes tardives.

On aboutit ainsi à une notion d'hétérogénéité génétique : les formes familiales, surtout précoces, ont pour le moins un ou des gènes « de susceptibilité » sur le 21, dans une zone qui, à l'heure actuelle, couvre encore plusieurs mégabases [3]. Les formes séniles, en revanche, ou bien ne sont pas d'origine génétique, ou reconnaissent un autre ou plusieurs autres facteurs génétiques ; un rapport préliminaire (cité en [2]) fait état d'une liaison possible avec la partie proximale du bras long du chromosome 19. Il faut enfin mettre à part une série de familles originaires des Allemands de la Volga, dont l'âge moyen de début est de 57 ans et qui résulte sans doute d'un effet fondateur : bien que certainement génétique, cette maladie n'est pas liée au 21 [4]. Cette hétérogénéité n'est pas surprenante : s'il est exact, comme l'affirment certaines enquêtes, que près de la moitié des sujets âgés de plus de 85 ans montrent des signes de la maladie, on voit mal comment ceux-ci pourraient dériver tous d'une même anomalie chromosomique. Ces enquêtes épidémiologiques étant d'une extrême lourdeur, on comprend l'importance des efforts qui tendent à détecter le phénotype d'Alzheimer dans des cellules en culture, d'origine neurale (*m/s n° 6, vol. 5, p. 477*) ou non.

[1. St George-Hyslop PH, *et al. Nature* 1990 ; 347 : 194-7.]

[2. Martin GM, *et al. Nature* 1990 ; 347 : 124-5.]

[3. Owen MJ, *et al. Am J Hum Genet* 1990 ; 46 : 316-22.]

[4. Schellenberg GD, *et al. Science* 1988 ; 241 : 1507-10.]

■■■■ *myc* et *max*, de redoutables partenaires. L'oncogène *c-myc* et ses proches (*L-myc*, *N-myc*) est l'un des oncogènes les plus étudiés. Les gènes

myc sont altérés dans d'assez nombreux types de cancers humains, rares (lymphomes de Burkitt) ou fréquents (cancers à petites cellules du poumon). La protéine Myc est à localisation nucléaire et possède de nombreuses caractéristiques des régulateurs de la transcription des gènes, notamment des régions intervenant dans la dimérisation de facteurs de transcription : une fermeture à glissière de leucines (*leucine zipper*) et un motif hélice-boucle-hélice (*helix loop helix*, HLH). Cependant, on n'avait pas pu démontrer jusqu'alors que les protéines Myc formaient de tels dimères ni vraiment prouver qu'elles se comportaient comme des facteurs se liant spécifiquement à l'ADN. Une équipe japonaise avait cependant rapporté, à la fin de l'année 1989, que *c-Myc* pouvait reconnaître une séquence d'ADN située 2 kpb en amont du site de *capping* du gène *c-myc* (contenant le motif TCTCTTA) et qu'il se comportait comme un facteur à la fois de réplication et de transcription (*m/s n° 2, vol. 6, p. 165*). R. Eisenman, de Seattle (WA, USA), vient maintenant de rapporter à un récent congrès sur « les origines des cancers humains », début septembre 1990, à *Cold Spring Harbor Laboratory* (NY, USA), qu'un partenaire électif de *c-Myc* avait été isolé et dénommé Max (*Myc Associated X*). La méthode utilisée consista à cribler une banque d'expression d'ADNc à l'aide d'un peptide de 92 acides aminés incluant les motifs potentiels de dimérisation et de liaison à l'ADN de *c-Myc*. La protéine Max présente de nettes analogies avec *c-Myc* dans la région des *leucine zipper* et motif hélice-boucle-hélice, mais non en dehors. Des travaux en cours nous diront bientôt si l'hétérodimère *Myc-Max* a une forte affinité pour l'ADN, quelle séquence nucléotidique il reconnaît, à proximité de quels gènes, et quelles sont les conséquences sur le fonctionnement de ces gènes de la fixation de l'hétérodimère.

[1. Marx J. *Science* 1990 ; 249 : 1503-4.]