

■■■■ **Myo-inositol dans la prévention des spina bifida résistantes aux folates.** Les anomalies de fermeture du tube neural, aboutissant au syndrome de spina bifida, constituent la plus fréquente malformation congénitale du système nerveux à révélation périnatale. Elle est source d'invalidité motrice et cérébrale souvent majeure. Plusieurs essais cliniques ont montré que 70 % des syndromes de spina bifida peuvent être prévenus grâce à un traitement par l'acide folique lors de la grossesse, mais aucune thérapie préventive n'est actuellement disponible pour les 30 % restants. Un mutant murin, la souris *curly tail*, est un modèle de syndrome de spina bifida résistant aux folates. Ce modèle reproduit les traits majeurs des syndromes humains : même localisation axiale des défauts, même fréquence d'anencéphalie, même élévation de l'alpha-fœtoprotéine dans le liquide amniotique. La mutation *curly tail* est dominante à pénétrance variable, localisée sur la partie distale du chromosome 4 de la souris (équivalent de la région 1p36-pter chez l'homme). Les modificateurs majeurs actuellement identifiés sont *mct1*, sur le chromosome 17, et *Pax3*. Il existe aussi une forte influence de l'environnement, la gravité des symptômes étant accentuée par des traitements à la mitomycine ou au 5-fluoro-uracil ou, au contraire, atténuée par l'acide rétinoïque. Depuis quelques années, il est possible d'observer *ex vivo* la croissance en culture d'embryons entiers, et il avait été noté que la carence des milieux en myo-inositol était source d'anomalies de fermeture du tube neural, non corrigées par l'adjonction de folates. Cela a conduit Greene et Copp (Londres, GB) à analyser l'intérêt du myo-inositol chez la souris *curly tail* [1]. Une injection unique intrapéritonéale de 400 mg/kg de myo-inositol chez la mère gestante après 9,5 jours de gestation suffit à réduire de 70 % la fréquence de spina bifida chez les souriceaux, sans que cet effet soit dû à une surmortalité des atteints,

ni pouvoir obtenir un effet supérieur avec des doses plus fortes ou des injections répétées. L'analyse du mécanisme d'action a été menée sur des embryons explantés à E 9,5 (stade 16-20 somites), soit 24 heures avant la fermeture complète du tube neural. 50 µg/ml d'inositol ajoutés au milieu de culture améliore significativement le taux de fermeture du tube neural, un effet bloqué par l'adjonction de lithium, suggérant un rôle des inositol-phosphates, car le lithium bloque le recyclage des phospho-inositols en inhibant leur déphosphorylation, ce qui empêche la reconstitution du stock d'inositol [2]. En effet, le myo-inositol est une vitamine du groupe B, précurseur des phosphatidyl-inositol membranaires, eux-mêmes précurseurs des inositol-phosphates qui activent la protéine kinase C, et de l'acide arachidonique. Si l'acide arachidonique ajouté au milieu reste sans effet, l'activation directe de la PKC reproduit les effets de l'inositol. Compte tenu de l'effet de l'acide rétinoïque les auteurs ont observé l'expression de l'un de ses récepteurs, RARβ. Inositol et activation de la PKC induisent une augmentation de son expression dans les parties les plus caudales du tube neural. Des essais cliniques menés chez l'homme pour dépression ou troubles paniques n'ont indiqué aucun effet secondaire particulier du myo-inositol administré à fortes doses. Il semble donc qu'il pourrait être avantageusement ajouté aux folates au cours de la grossesse pour réduire encore la fréquence de survenue des spina bifida.

[1. Greene NDE, Copp AJ. *Nature Med* 1997; 3: 60-5.]

[2] Chireux M. *Med Sci* 1994; 10: 314-7.]

■■■■ **Un changement phénotypique des neurones sensoriels primaires myélinisés à l'origine de l'hypersensibilité à la douleur inflammatoire ?** L'inflammation modifierait les propriétés des fibres myélinisées de

gros diamètre Aβ [1]! Chez l'animal sain, ces fibres conduisent l'information sensorielle tactile légère. Dans un modèle d'inflammation aiguë, les auteurs mettent en évidence, 48 heures après l'injection d'une solution irritante, une augmentation importante du contenu en substance P des ganglions de la racine dorsale (GRD) innervant la patte injectée, ainsi que du nombre de neurones des GRD exprimant l'ARNm du gène de la pré-pro-tachykinine (un précurseur de la substance P) ce qui implique une synthèse nouvelle de la substance P de la part de cellules qui ne la synthétisaient pas en situation basale. La substance P, mise en jeu dans la transmission centrale de l'information nociceptive, est normalement produite par environ 25 % des neurones sensoriels primaires, mais pas par les fibres Aβ; elle est synthétisée par 45 % des fibres de petit diamètre associées à la nociception, myélinisées (fibres Aδ) ou non (fibres C), et est colocalisée avec le récepteur à forte affinité du NGF (TrkA) (*m/s n° 3, vol. 13, p. 390*). On a évalué le recouvrement des neurones synthétisant la substance P et des fibres myélinisées marquées par le fragment B de la toxine cholérique (qui se lie spécifiquement au ganglioside GM1 que l'on ne trouve que dans les fibres A): le nombre total de fibres Aβ myélinisées de gros diamètre (>6 µm) immunoréactives pour la substance P a été multiplié par trois chez les animaux soumis à une douleur inflammatoire par rapport aux témoins. A l'aide de critères électrophysiologiques, les auteurs ont montré chez les animaux d'expérience que les fibres Aβ évoquaient, sur les neurones de la corne dorsale de la moelle épinière impliqués dans la nociception, des réponses post-synaptiques du même type que les fibres C chez l'animal sain, et que ces réponses étaient très diminuées par un antagoniste spécifique de la substance P. L'augmentation du nombre de fibres Aβ exprimant la substance P après l'inflammation

résulterait donc d'un changement de leur phénotype et refléterait leur aptitude à engendrer *in vivo* une excitabilité centrale mise en jeu dans la transmission de l'information nociceptive qu'elles ne manifestent pas chez l'animal sain.

[1. Neumann S, *et al. Nature* 1996; 384: 360-4.]

■■■ **Réponses à des stimulations nociceptives, anxiété et agression chez la souris au gène pré-pro-enképhaline invalidé.** L'invalidation du gène codant pour la pré-pro-enképhaline chez la souris ne modifie pas de manière patente le comportement spontané de ces animaux. L'enképhaline n'est pas détectable dans le striatum de ces animaux homozygotes dont le gène est invalidé (*KO-PPEnk*), et le niveau d'immunoréactivité pour ce peptide y est diminué de moitié chez les animaux hétérozygotes par rapport aux animaux témoins. Les souris *KO-PPEnk* présentent le même seuil de réponse aux stimulus nociceptifs évalués à l'aide d'un test spinal (*tail-flick*) que les souris témoins. En revanche, dans un test supra-spinal (*hot-plate*) [2] les souris *KO-PPEnk* sont beaucoup plus réactives que les souris témoins, ce qui conduit à penser que les enképhalines endogènes interviendraient dans la modulation des réponses de type supra-spinal mais pas de type spinal. Les systèmes opioïdes endogènes jouent un rôle important dans la modulation des réactions comportementales à des stimulations nociceptives dans des situations où est perçu un danger lié à l'environnement (analgésie induite par les *stress*, AIS). À l'aide de trois protocoles de *stress*, les auteurs montrent que les réactions au *stress* des souris *KO-PPEnk* sont identiques à celles des souris témoins, ce qui contredit l'hypothèse selon laquelle les enképhalines seraient mises en jeu dans

l'AIS. L'activité locomotrice spontanée des souris *KO-PPEnk* est significativement plus faible, malgré l'absence de déficits moteurs. Elles manifestent une appréhension et une anxiété exagérées sans que soit affecté leur comportement général. Enfin, ces souris présentent un comportement beaucoup plus agressif au cours d'une rencontre avec un congénère. L'ensemble de ces résultats montre que l'absence d'enképhalines est à l'origine d'une réponse comportementale exagérée à certains types de stimulus nociceptifs mais aussi à des situations où l'environnement semble menaçant, génératrices d'anxiété, ce qui laisse supposer un rôle de ces systèmes dans le contrôle de l'anxiété et de l'agressivité.

[1. König M, *et al. Nature* 1996; 383: 535-8.]

[2. Kieffer B, *et al. Med Sci* 1997; 13: 232-5.]

■■■ **La scrapie n'est pas une maladie génétique spontanée.** La scrapie, ou tremblante du mouton, est la plus répandue des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles. Elle a fait son apparition chez les ovins il y a plus de deux siècles. D'origine totalement inconnue jusque récemment, on l'a rapportée à des polymorphismes génétiques de la protéine PrP (*m/s n° 5*, vol. 12, p. 673). Mais cette réponse n'est pas si claire : est-elle purement génétique ou ces polymorphismes contrôlent-ils la susceptibilité à un agent infectieux ? L'expérience australienne et néozélandaise apporte un élément extrêmement fort en faveur d'une origine infectieuse : en effet, les troupeaux de ces deux pays sont exempts de scrapie, alors qu'ils ont exactement les mêmes fonds génétiques et polymorphismes de la protéine PrP que leurs congénères anglais [2]. Comment les Austra-

liens et les Néo-Zélandais ont-ils fait pour éviter la scrapie ? Ils ont pris de sages mesures de protection : toute bête arrivant de l'extérieur commence par passer au moins trois ans en quarantaine dans une île. Certaines développent la maladie, et tout le troupeau est détruit ; dans le cas contraire, leurs descendants rejoignent le troupeau national par transfert d'embryons. La susceptibilité génétique étant la même chez les ovins Cheviot et Suffolk de Grande-Bretagne et du Pacifique Sud, cette étude montre que le développement de la scrapie nécessite un facteur externe additionnel, très probablement un agent infectieux absent des troupeaux non atteints et, plus largement, des pays sans scrapie. Ces faits sont aussi à rapprocher de la notion bien établie que les champs dans lesquels ont brouté des animaux atteints de la scrapie restent infectieux au moins trois ans [2]. Après la transmission de la maladie sans détection de la forme anormale de la protéine PrP rapportée par l'équipe de D. Dormont (*m/s n° 2*, vol. 13, p. 287), voilà encore des éléments supplémentaires pour remettre en cause l'hypothèse de Prusiner dite de la « protéine seule ».

[1. Hunter N, *et al. Nature* 1997; 386: 137.]

[2. Reibel S. *Encephalopathie spongiforme bovine. Épidémiologie et implications*. Paris : Polytechnica, 1994.]

■■■ **Les fibres afférentes primaires myélinisées de type A bourgeonnent dans la corne dorsale superficielle de la moelle épinière de rat adulte après application locale de capsaicine sur le nerf sciatique.** Les fibres afférentes primaires se terminent dans la corne dorsale de la moelle épinière selon une organisation laminaire qui dépend de leur nature : les fibres A β myélinisées de gros diamètre, associées à

des mécanorécepteurs à bas seuil, se terminent dans les couches III-VI (figure 1); les fibres A δ myélinisées de petit diamètre, associées préférentiellement à des nocicepteurs dans les couches I et V, et les fibres C non myélinisées, nociceptives, dans la couche II. L'application locale de capsaïcine sur le nerf sciatique [1] provoque une dégénérescence spécifique des fibres C, révélée par marquage à la thiamine monophosphatase (TMP) spécifique de ces fibres; le marquage est totalement absent dans la plus grande partie médiolatérale de la couche II de la moelle lombaire du côté de l'application de la toxine. De même, cette couche est totalement dépourvue de marquage par le fragment B de la toxine cholérique, conjugué à la peroxydase HRP, injecté dans le nerf sciatique chez les animaux sains; rappelons que ce marquage est spécifique des fibres myélinisées A, et que toutes les autres couches de la corne dorsale sont marquées. Chez les animaux traités à la capsaïcine, 2 semaines après le traitement, toute la corne dorsale est marquée, y compris la couche II à l'endroit même où se distinguait le marquage à la TMP, suggérant que, après lésion des fibres C et sans lésion des fibres A, ces dernières peuvent bourgeonner collatéralement dans la couche II de la corne dorsale de la moelle épinière.

[1. Mannion RJ, *et al. J Neurosci* 1996; 16: 5189-95.]

■■■■ **Du nouveau dans les rapports entre maladie d'Alzheimer et encéphalopathies spongiformes humaines.** K.H. El Hachimi *et al.* [1] viennent de rapporter l'association chez deux frères de manifestations cliniques et de lésions histologiques cérébrales spécifiques à la fois de la maladie d'Alzheimer (MA) et de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ). Ces maladies se sont déclarées avant 50 ans et ont eu une évo-

lution rapide. Les signes cliniques de MCJ sont apparus dans un second temps par rapport aux signes de maladie d'Alzheimer. Les examens anatomo-pathologiques et d'immuno-histochimie ont montré la coexistence dans le cerveau de dépôts de la protéine β A4, avec dégénérescences neurofibrillaires de paires de filaments en hélice (MA) et de la protéine amyloïde PrP en plaques diffuses et en plaques semblables à celles du kuru, associés à une microspiongie (MCJ). L'étude de génétique moléculaire n'a pas trouvé de mutation du gène *PRNP* mais a mis à jour une mutation au codon 163 du gène de la préséniline-1 sur le chromosome 14, gène impliqué dans la variété MAF 3, à début précoce, des formes familiales de MA [2]. Les études de contamination de primates par des broyats de cerveau d'un des malades, à la recherche d'une MJC, n'ont pas donné de résultat, les animaux étant morts de maladie intercurrente. Il s'agit donc d'une maladie d'Alzheimer familiale associée à une MCJ, sans mutation du gène *PRNP* mais avec des signes cliniques et neuropathologiques caractéristiques de MCJ, identiques chez les deux frères. Ainsi que le soulignent les auteurs, ces observations apportent un exemple de ce que pourrait être *in vivo* le processus d'hétéronucléation, la présence de la préséniline-1 mutée ayant probablement facilité la formation de fibrilles amyloïdes, β A4 (et l'apparition précoce d'une MA) et favorisé la modification structurale du précurseur de la protéine amyloïde de la MCJ lui permettant d'acquérir une conformation « β -plissée » insoluble et peut-être « infectante », la PrP^{Sc}. Elles établissent également un pont dans le continuum reliant encéphalopathies spongiformes humaines et maladie d'Alzheimer.

[1. El Hachimi KH, *et al. Int J Exp Clin Invest* 1996; 3: 223-33.]

[2. Campion D, *et al. Med Sci* 1996; 12: 723-31.]

GÉNÉTIQUE DE LA FERTILITÉ MASCULINE COLLIOURE, FRANCE 4-6 septembre 1997

Jeudi 4 septembre

GENETIC CONTROL OF SPERMATOGENESIS

Genetic of sexual differentiation: C. Sultan (F)

Genetic control of spermatogenesis: N. Hecht (USA)

Mapping of the Y: D. Page (USA)

Epidemiology of oligo and azoospermia: A. Spira (F)

Genetic aspects of flagellar dyskinesia, globozoospermia: C. Gagnon (C)

Urogenital dysgenesis and male infertility: P.N. Schlegel (USA)

Karyotype and oligospermia: A. Chandley (UK)

Heritability of sterility: H. Tournaye (B)

Vendredi 5 septembre

GENETIC OF THE SPERMATOZOON

DNA packaging: S. Ward (USA)

Detection and characterization of chromosome abnormalities: R. H. Martin (C)

X/Y separation: J.D. Schulman (USA)

Oxydative damages of chromatin: D. Sakkas (S)

SESSION DE POSTERS

TABLE RONDE ÉTHIQUE

McDonough (USA), M. Serres (F), F. Collins (USA), A. Kahn (F)

Samedi 6 septembre

ROLE OF SPERMATOZOON IN EMBRYOGENESIS

Paternal effects on early embryogenesis: L. Janny (F)

Paternal inheritance of the centrosome: G. Schatten (USA)

Gene imprinting: N. De Groot (IL)

Mitochondrial DNA: J. Cummins (Aus)

Renseignements:

**Hélène Moutaffian, CHU la Grave,
Laboratoire de FIV,
31052 Toulouse Cedex, France
Tél. : 05 61 77 78 58
Fax : 05 61 59 24 83**