

Le GDNF tient la vedette à la Society for Neuroscience

Avec un symposium entier [1] et plusieurs dizaines de communications, le GDNF (*glial cell-line derived neurotrophic factor*) a tenu cette année le haut du pavé au congrès de San Diego. De cette accumulation de données plus ou moins nouvelles, on a toutefois bien du mal à tirer des grandes conclusions, si ce n'est celle d'une intense activité qui, comme pour le NGF, le BDNF ou CNTF dans les années passées, ouvrira sans doute bientôt la voie à une recherche mieux organisée et plus approfondie.

Une biologie encore très mal connue

À côté de l'avalanche de travaux sur la capacité du GDNF de protéger neurones dopaminergiques et motoneurones, les quelques rares communications tendant à définir la biologie du facteur faisaient pâle figure. Sur le plan de la biologie moléculaire, l'analyse des transcrits se poursuit doucement après la mise en évidence d'au moins deux isoformes produites par épissage alternatif. Ces isoformes ont été retrouvées chez l'homme [2] (chez lequel par ailleurs le gène a été localisé sur le chromosome 5) : – une forme contient une délétion de 78 paires de bases dans la région « pro » de la préproprotéine ; – l'autre comprend une insertion de 79 paires de base qui provoque un décalage du cadre de lecture. Il est possible que, pour cette seconde forme, l'initiation de la transcription à un autre endroit conduise à la formation d'une protéine complète mais sans peptide signal. On n'en est certainement qu'au tout début de ces études car plusieurs gènes homologues ont été amplifiés par PCR [3].

La localisation du GDNF a été déjà

largement étudiée. Certaines communications revenaient sur des points plus particuliers comme la localisation du GDNF et de ses deux isoformes connues chez le rat [4, 5]. Ces trois molécules possèdent des caractéristiques propres, au cours du développement comme chez l'adulte. En particulier, on peut noter que les taux de transcrits du GDNF sont élevés dans le striatum et la substance noire embryonnaires puis qu'ils déclinent dans la noire mais pas dans le striatum. Ainsi, il est plausible que le GDNF joue le rôle de facteur trophique dérivé de la cible pour les neurones dopaminergiques adultes qui perdent eux-mêmes progressivement leur capacité de synthèse. L'observation – très classique pour ces facteurs – d'un transport rétrograde efficace dans le système nerveux va dans le même sens [6, 7]. Cette hypothèse ne doit toutefois pas être la seule explorée et, même si cela est encore timide, les travaux sur le contrôle de la synthèse de la molécule, ainsi que sur ses effets biologiques, commencent à apparaître. La transcription du gène est induite par le calcium [8] et le renouvellement des ARNm est très rapide (< 4 heures). Parmi les molécules qui peuvent influencer sur la synthèse du GDNF, une mention particulière a été faite de l'IL-1 β [9] parce que cette interleukine induit une pousse axonale dopaminergique *in vivo* sans avoir d'effet direct connu sur les neurones dopaminergiques : il est donc possible que GDNF (synthétisé par des astrocytes) serve de relais... à moins que ce ne soit bFGF, qui est lui aussi largement augmenté... ou CNTF ? Les récepteurs qui relaient l'action du GDNF restent, toutefois, largement inconnus [10].

Des mécanismes neuroprotecteurs complexes sur les neurones dopaminergiques

L'essentiel des travaux présentés au colloque concernaient les effets neuroprotecteurs de la molécule. Le principe de la plupart de ces études était des plus classiques, comparant la survie d'une population neuronale soumise à une agression en présence, ou en l'absence, du facteur, *in vitro*, *in vivo*, au cours du développement ou chez l'adulte, chez le rat ou le primate.

Identifié tout d'abord comme un facteur protecteur de cellules dopaminergiques de la substance noire, le GDNF continue d'être largement étudié dans ce système.

Deux travaux réalisés en culture cherchaient à aborder les mécanismes de cet effet. Sieber *et al.* [11] ont comparé les effets du GDNF, de TGF β et d'un milieu conditionné d'astrocytes sur les neurones de la substance noire. GDNF fait en effet partie de la superfamille des TGF β et on a suggéré qu'il était sécrété par des astrocytes. Les résultats obtenus n'indiquent pas que l'effet neuroprotecteur induit par ce milieu conditionné serait dû à l'un ou à l'autre de ces deux facteurs. Il reste, et c'est ce à quoi s'emploie cette équipe, à identifier le – ou les – facteur(s) synthétisé(s) et sécrété(s) par les astrocytes. Un nouveau facteur-vedette en vue ? Clarkson *et al.* [12] ont, de leur côté, abordé le problème du mécanisme de la neuroprotection. Ayant observé que le GDNF décroît la proportion de neurones apoptotiques dans la substance noire (de 5 à 2 % dans des cultures mixtes neuronales et gliales), ils se sont interrogés sur le rôle des astrocytes dans cet effet. La

comparaison des effets obtenus dans des cultures contenant, ou non, des cellules gliales en prolifération leur a permis de conclure que la survie des neurones n'est facilitée par le GDNF qu'en présence des astrocytes. Comme pour d'autres facteurs (le bFGF [13] ou l'IGF-1 par exemple), il est possible que les cellules gliales soient un relais essentiel, voire obligatoire, de l'effet neuroprotecteur, ce qui ramène au problème de l'existence de facteurs astrocytaires encore inconnus posé par le travail précédent. La différence entre l'action de GDNF et de TGF β , à savoir que GDNF prévient la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire liée à la 6-hydroxytryptamine, et non TGF β , a par ailleurs été retrouvée *in vivo* [14]. Une étude réalisée *in vivo* s'attachait elle aussi à la définition des mécanismes d'action du GDNF en montrant que le facteur provoquait, après injection intranigrale, un accroissement de la libération de dopamine induite par le potassium dans le striatum [15]. Le GDNF, outre son action protectrice ou axonogénique, pourrait donc aussi agir sur le métabolisme et la physiologie de ces cellules. *In vivo*, un accent très particulier a été mis cette année sur l'observation chez le primate [16-18] même si le rat autorise la réplication de nombreuses études [19-21], et sur la recherche de voies d'apport utilisables cliniquement, qu'il s'agisse d'administration intraventriculaire d'un facteur recombinant [22, 23], éventuellement englobé dans des boules de fibrine [24], de thérapie génique par AAV [17], ou par cellules encapsulées [25]. Cette double orientation montre en même temps que plusieurs équipes croient fortement à un développement de la molécule en clinique et... que de nouveau, comme avec plusieurs facteurs neurotrophiques dans les années passées, la pauvreté des données fondamentales – notamment mécanistiques et toxicologiques – n'empêche pas de se précipiter. Espérons, tout de même, que les expériences (décevantes voire cruelles) du passé tempéreront les enthousiasmes et inciteront à une étude préclinique approfondie.

GDNF, motoneurones... et autres

L'autre population neuronale sur laquelle GDNF possède un effet majeur (et qui présente un intérêt clinique certain) est celle des motoneurones. Lors du symposium sur le GDNF [1], Christopher Henderson a fait une revue exhaustive de ces études, dont il a été le pionnier, prenant en compte les communications du colloque [26-29]. En résumé, le rôle du GDNF dans le développement du motoneurone paraît plausible mais complexe car l'expression du gène est observée non pas dans l'ébauche musculaire, mais au niveau du plexus axonal en croissance. En ce qui concerne la neuroprotection, rien de bien nouveau depuis la publication groupée dans *Nature* en janvier 1995. GDNF protège les motoneurones *in vitro*, *in vivo* dans des modèles d'axotomie, etc. Une mention particulière peut être accordée à deux présentations, celle de l'équipe d'Oppenheim [26] qui indique que le GDNF (comme BDNF) inhibe l'accroissement, observé normalement après lésion, de la NO synthase dans des motoneurones axotomisés, et celle de l'équipe d'Ann Kato [28] qui observe un effet additif de GDNF et de BDNF dans la protection des mêmes neurones.

Sans que l'on puisse encore en tirer d'importantes conclusions, plusieurs travaux étaient consacrés dans ce colloque à l'effet neuroprotecteur du GDNF sur d'autres populations neuronales comme les neurones sympathiques [30], noradrénergiques du *locus coeruleus* [31], des ganglions rachidiens [32], ou cellules de Purkinje du cervelet [33]. Au fur et à mesure que ces effets neuroprotecteurs de facteurs trophiques de familles diverses sont recherchés, ils sont... trouvés ! En dehors du NGF (et encore), les neurotrophines, le CNTF, les FGF, IGF-1, et les membres de la superfamille des TGF β semblent bien perdre de leur spécificité chez l'adulte. Les mécanismes de ces effets neuroprotecteurs non spécifiques restent, toutefois, toujours aussi difficiles à identifier.

M.P.

1. Olson L, Hoffer DJ, Henderson CE. Symposium GDNF: a new neurotrophic factor with multiple roles. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 493.
2. Choi-Lundberg DI, Figlewicz DA, Bohn MC. Chromosomal location and alternatively spliced forms of human glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). *Neurosci Abstr* 1995; 21: 790-5.
3. Pochon NAM, Zurn AD, Menoud A, et al. GDNF: a member of a gene family expressed in many subpopulations of adult brain neurons. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 790-13.
4. Wright DE, Gerfen RW, Saxena MT. GDNF mRNA is focally expressed in developing mouse limb bud in regions where axons form the plexus. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 790-4.
5. Dean DO, Alberch J, Dreyfus CF, et al. Alternative GDNF transcripts in rat brain: widespread developmental and regional expression. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 790-6.
6. Tomac A, Widenfalk J, Lindqvist E, et al. Retrograde axonal transport of GDNF in the adult central nervous system. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 515-25.
7. Yan Q, Matheson CR. Retrograde transport study of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in adult rat nervous system. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 515-6.
8. Bishop JF, Wang W, Mueller GP, et al. Effects of elevated intracellular calcium on GDNF gene expression. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 417-9.
9. Ho A, Blum M. Regulation of bFGF and GDNF mRNA by interleukin-1 β in striatal astrocyte cultures; potential mechanism for dopaminergic sprouting in parkinsonian rats. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 125-11.
10. Treanor J, Hefti F, Siegel M, et al. Characterization of GDNF binding to putative GDNF receptor. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 515-14.
11. Sieber BA, Mendoza G, Racev BR, et al. Differential survival effects of GDNF, TGF β s and type 1 astrocyte-conditioned medium on ventral mesencephalic dopamine neurons in culture. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 224-14.
12. Clarkson ED, Zawada WM, Freed CR. GDNF reduces apoptosis in dopaminergic cells *in vitro*: examination of mechanism(s) of GDNF. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-2.
13. Hou JG, Mytilineou C. bFGF and GDNF stimulate the growth of dopamine neurons in culture by independent pathways. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-14.
14. Rosenblad C, Sauer H, Björklund A. GDNF but not TGF β prevents delayed degeneration of nigral dopaminergic neurons following axon terminal lesion induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-13.
15. Hebert MA, Van Horne CG, Hoffer BJ, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor augments K⁺ evoked overflow of dopamine in rat striatum. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-5.
16. Zhang Z, Cass W, Ovadia A, et al. Glial derived neurotrophic factor (GDNF) effects on the nigrostriatal dopamine system in the rhesus monkey. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-1.
17. During MJ, Choi-Lundberg D, Leone P, et al. Neuroprotection and neuroregeneration in rodent and primate parkinsonian models using AAV vectors expressing GDNF. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-9.
18. Gash DM, Zhang Z, Ovadia A, et al. GDNF upregulates nigral dopamine neurons and improves motor functions in hemiparkinsonian rhesus monkeys. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 503-3.

-
19. Opacka-Juffry J, Ashworth S, Hume SP, *et al.* GDNF partially protects dopamine neurones in rats exposed to 6-hydroxydopamine (6-OHDA): *in vivo* study using PET and microdialysis. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-15.
20. Shults CW, Shin C, Ernesto C, *et al.* Effects of intrastriatal injections of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in rats. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-16.
21. Hagg T, Lu X GDNF prevents death but not loss of tyrosine hydroxylase of axotomized adult rat substantia nigra neurons. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-17.
22. Miller G, Martin D, Collins F. Intracerebroventricular rhGDNF prevents 6-hydroxydopamine mediated nigral cell loss *in vivo*. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-11.
23. Beck KD, Valverde J, Hefti F. GDNF promotes postnatal differentiation of dopaminergic neurons *in vivo*. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-23.
24. Giacobini MB, Cheng H, Hoffer BJ, *et al.* The effect of glial cell line-derived neurotrophic factor in fibrin glue on developing dopamine neurons. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 224-4.
25. Tseng JL, Hammag JP, Zurn AD, *et al.* Effects of polymer encapsulated GDNF releasing cells on an axotomy model of Parkinson's disease. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-12.
26. Wu W, Li L, Penix JQ, *et al.* GDNF and BDNF inhibit the induction of NOS and prevent the death of adult rat spinal motoneurons following root avulsion. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 119-6.
27. Corse AM, Coccia CF, Rothstein JD, *et al.* GDNF provides potent neuroprotection of motor neurons against chronic glutamate toxicity. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-19.
28. Vejsada R, Lindsay RM, Kato AC. Additive rescue effects of GDNF and BDNF on axotomized sciatic motoneurons in newborn rats. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 605-10.
29. Yu WHA. BDNF and GDNF but not CNTF inhibit axotomy-induced nitric oxide synthase (NOS) expression in motor neurons of cranial nerves. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 605-12.
30. Kotzbauer PT, Lampe PA, Milbrandt J, *et al.* Survival of rat sympathetic neurons in the presence of GDNF. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-21.
31. Arebas E, Trupp M, Akerud P, *et al.* GDNF, a neurotrophic factor for central noradrenergic neurons *in vivo*. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 119-5.
32. Matheson CR, Pinkstaff J, Yan Q. The *in vivo* responses of neonatal rat dorsal root ganglion neurons to neurotrophins and GDNF. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-24.
33. Mount HTJ, Dean DO, Alberch J, *et al.* Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) promotes the survival and morphological differentiation of Purkinje cells. *Neurosci Abstr* 1995; 21: 225-18.
-