

# Un prix Nobel pour les prions

## Des agents transmissibles non conventionnels, encore bien mystérieux

**André Picot\*** directeur de recherche, **Josiane Guery\*** pharmacien

### Summary :

*The prions, unconventional transmissible agents, are cellular proteins. They offer a great resistance to physiological and chemical agents and become pathogenic when they are misfolded. The 1997 Nobel Prize of physiology and medicine was awarded to Stanley Prusiner for this discovery.*

*Those prions are involved in transmissible subacute encephalopathies (TSEs) that affect both humans and animals (ovins, caprines, bovines...).*

*The one responsible of bovine spongiform encephalopathy (SBE) or « mad cow disease », mainly spread out in the United Kingdom since 1987, can be transmitted by food contamination to the humans whom risk to develop a particular variant of Creutzfeldt Jacob disease (vCJD).*

*Whithout reliable data, we are notable to state the consequential effects of the « mad cow » epidemic on humans.*

*In despite of any therapy, a highly worrying doubt remains. Only rigorous precautionary measures must be applied to avoid a serious propagation of this unconventional infectious agent.*

*The real pathogenecity has to be definitively proved.*

**Mots clés :** *Prions, agents transmissibles non conventionnels, encéphalopathie spongiforme subaiguë transmissible, maladie de la « vache folle », prévention.*

**Key-words :** *Prions, unconventional transmissible agents, transmissible subacute spongiform encephalopathy, « mad cow disease », prevention.*

**L**e prix Nobel 1997 de physiologie et de médecine vient d'être attribué à **Stanley Prusiner** pour avoir ajouté le **prion**, nouveau principe biologique d'infection, à la liste des agents infectieux classiques qui regroupe les bactéries, les virus, les champignons et les parasites [1].

Ce prix Nobel, attribué uniquement à Stanley Prusiner, récompense l'obstination d'un chercheur américain, actuellement professeur de neurologie à l'université de Californie à San Francisco, qui s'est acharné pendant plus de 20 ans, seul contre une bonne partie de la communauté scientifique, à démontrer que les prions sont responsables des **encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles** (ESST), tant animales, qu'humaines.

C'est la première fois que les membres de l'Institut Karolinska de Stockholm ont pris le risque, inhabituel pour cette institution, de récompenser un chercheur dont les travaux ne sont pas totalement validés.

Comme l'a déclaré Luc Montagnier au journal *Le Monde* (8-10-97) « La leçon que l'on peut tirer de ce prix est qu'il faut, en sciences comme ailleurs, savoir se battre pour ses idées, quand même ces dernières sont perçues dérangeantes pour ses pairs ».

C'est en 1967 que **T. Alper** [2], travaillant à Londres, découvre que les ultraviolets, qui détruisent les acides nucléiques, sont inactifs sur l'agent responsable de la **tremblante du mouton** (scrapie), qui doit donc être une protéine. L'année suivante, **J. S. Griffith** [3], du Bedford College de Londres, suggère que l'agent infectieux de la scrapie est en fait une **protéine cellulaire** dont la **conformation spatiale est altérée**. En France, **R. Latarget**, en 1970 [4], apporte quelques preuves expérimentales à la nature protéique de cet **agent infectieux non conventionnel**.

\* UPS 831, Prévention du Risque Chimique, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex. Tél. : 01.69.82.30.65. Fax : 01.69.07.72.47.

Reprenant cette hypothèse, S. Prusiner, en 1970, purifie partiellement cette protéine infectieuse et la dénomme protéine PrP (protease-resistant protein) ; mais ce n'est qu'en 1982, qu'il achève sa purification et la dénomme **prion** (proteinaceous infectious particle) [5].

Ce mystérieux prion doit sa célébrité à l'une des plus graves crises de sécurité alimentaire ayant touché l'Europe : « **L'affaire de la vache folle** ».

Cette crise a éclaté, le 20 mars 1996, lorsque le ministre britannique de la Santé informe que dix personnes (de jeunes adultes) sont atteintes d'une **nouvelle forme de la maladie de Creutzfeldt-Jakob**, qui était surtout connue pour toucher des personnes âgées.

Cette nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (V-MCJ) a fait à ce jour 21 victimes (20 en Grande-Bretagne et une en France), contaminées par la consommation de viande de bovins atteints d'encéphalopathie spongiforme bovine.

Dans le premier numéro d'octobre 1997 de *Nature* [6], Madame **M. Bruce** (Édimbourg) apporte la preuve quasi certaine de la transmissibilité de **l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) à l'Homme**, qui développe la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (V-MCJ), preuve confirmée dans le même numéro par **J. Almond et J. Pattison** (Londres) à partir de données de biologie moléculaire [7].

Pour autant, rien ne permet encore de se prononcer sur l'ampleur future de l'épidémie chez l'Homme et on reste toujours dans une très grande incertitude.

Espérons que l'avenir soit favorable à l'espèce humaine.

### Les agents transmissibles non conventionnels (ATNC) ou prions et leurs maladies

Des arguments cliniques et épidémiologiques, apportés depuis 1996 [8], suggèrent assez fortement que les prions peuvent provoquer, dans les organismes où ils se multiplient, des maladies dégénératives du système nerveux central (SNC), toujours mortelles dénommées encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (**ESST**) frappant aussi bien l'Homme que de nombreuses espèces animales (ovins, caprins, cervidés, bovins, et même les carnivores comme les chats...).

Les maladies à prions (protein folding diseases) sont particulières car leur **origine est à la fois infectieuse et génétique**. De plus, elles peuvent être transmises au sein de la même espèce (Homme-Homme par exemple) et, dans certaines conditions, d'une espèce à l'autre (par exemple, selon toute vraisemblance de la vache à l'Homme).

Par ailleurs, toutes ces maladies ont en commun d'être transmissibles, **de ne pas provoquer de réactions inflammatoires** (au contraire des maladies infectieuses) et il ne semble pas y avoir de réactions spécifiques du système immunitaire<sup>1</sup>.

#### La tremblante du mouton : une maladie d'origine mystérieuse

En Europe, on connaît une maladie endémique, la tremblante du mouton (ou de la chèvre) depuis 1732 et les Anglo-Saxons la dénomment « scrapie » (to scrap = gratter). Son incidence peut encore atteindre 30 % dans certains troupeaux du Royaume-Uni (1990) et elle affecte, aujourd'hui, tous les pays à l'exception de l'Australie et de la Nouvelle-

Zélande. Elle n'est pas univoque, les signes cliniques dépendant de la souche de prion impliquée (20 souches décrites à ce jour).

Les animaux atteints sont incapables de coordonner leurs mouvements, finissent par ne plus tenir debout et meurent d'épuisement (cachexie).

En 1936, deux vétérinaires français, J. Cuillé et P.L. Chelle [10], ont établi que cette maladie dégénérative du cerveau ou encéphalopathie spongiforme était causée par un agent transmissible, mais cette découverte restera longtemps ignorée ! Dans les années 60, J.S. Griffith [3] et R. Latarget [4] (Institut Curie), par des arguments indirects, émettent l'hypothèse que l'agent infectieux doit être de nature protéique [14b]. Mais, c'est seulement en 1982 que l'Américain Stanley Prusiner [1c] suggère que l'agent causal est une protéine qu'il dénomma prion (proteinaceous infectious particle) ou encore **PrP (protease resistant protein)**.

Jusqu'à présent, aucun cas de transmission à partir de moutons atteints de tremblante n'a été décrit chez l'Homme, mais il faut rester vigilant. En fait, le problème qui reste posé est de savoir comment, au départ, ces moutons ont été contaminés. Il a été avancé que l'infection pourrait se transmettre grâce à la persistance des prions dans la pâture. L'infectiosité pourrait persister dans le sol, au moins pendant trois ans, ce qui pose un problème quant à la sécurité de l'enfouissement des carcasses d'animaux malades et a fait bannir l'utilisation de protéines d'abats d'animaux dans les engrais [12a].

Fait étrange, il a été signalé, en avril 1996, une transmission expérimentale, entre le mouton et la souris, du prion de la tremblante par des acariens phytophages, certains insecticides organophosphorés (généralement peu acaricides) comme le Phosnet, ayant été accusés de favoriser leur propagation [12b], une hypothèse qu'il reste à vérifier [12c] !

## La maladie de la vache folle, peut-être à l'origine des encéphalopathies spongiformes des autres espèces ?

En novembre 1986, en Grande-Bretagne, fut identifiée pour la première fois l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), plus connue sous le vocable de « maladie de la vache folle » car elle se caractérise par une modification du comportement **des animaux qui deviennent agressifs et perdent leur coordination motrice** [1, 8]. Cette encéphalopathie est, quant à elle, univoque, la durée d'incubation étant comprise entre 2,5 et 8 ans et les signes cliniques très stéréotypés (nervosité, troubles de la motricité, de l'équilibre, amaigrissement). La mort survient le plus souvent entre un à six mois après le début des symptômes.

Les lésions histologiques cérébrales concernent surtout les neurones qui se vacuolisent donnant au tissu nerveux l'aspect d'une éponge, et qui progressivement dégénèrent et meurent.

En 1988, une enquête épidémiologique permit de mettre en évidence que les bovins avaient été contaminés par des farines de viandes et d'os préparées à partir de carcasses de moutons (pour 15 %) et de bovins, dont certaines devaient être contaminées par des prions [13].

Fait curieux, de 1960 à 1982, il n'y avait pas eu, en Grande-Bretagne, de réelles contaminations car les farines alimentaires de ce type étaient, préalablement à la stérilisation (120 °C), **délipidées avec de l'hexane, ce qui inactivait les prions**. Ensuite, par mesure d'économie, cette délipidation fut supprimée, et la température de chauffage diminuée (80-90 °C) [14]. Or, depuis les années 60-70, on savait que les prions résistent, par exemple, à un autoclavage à 120 °C durant une heure (seul un autoclavage à 135 °C pendant au moins 18 minutes, sous 3 bar, permet leur destruction totale). Les économies d'énergie ne sont pas toujours rentables !

En fait, au Royaume-Uni, l'utilisation des farines animales dans l'alimentation des ruminants (ce qui est en soit une aberration car ce sont des herbivores), introduite dès 1940, fut interdite à partir du 18 juillet 1988 (entre 1986 et 1997, plus de 170 000 bêtes à cornes ont été touchées dont 70 % dans le troupeau laitier, et sont mortes sur un cheptel de 11,5 millions) [15].

Par contre, **l'exportation ne fut pas arrêtée**, ce qui pourrait expliquer les cas de contamination en France (surtout en Bretagne, dans les Côtes-d'Armor), le premier cas ayant été détecté en mars 1991 (29 cas reconnus entre 1991 et 1997)... la solidarité européenne n'a parfois pas de frontière !

Parmi les pays européens les plus touchés, hormis la Grande-Bretagne, on trouve la Suisse (234 cas), l'Irlande (218 cas), le Portugal (96 cas), l'Allemagne (5 cas) et l'Italie (2 cas), mais on demeure étonné du nombre de cas peu élevé par rapport aux quantités de farines animales britanniques exportées (plus de 7 millions de tonnes à partir de 1990). On estime à 900 000, le nombre de bovins britanniques, en phase d'incubation, passés avant mars 1996 dans l'alimentation humaine [14b]. Il est vraisemblable que, selon les pays de l'Union européenne, on observe une sous-déclaration, voire une non déclaration des cas d'ESB... Faut-il y voir une

volonté délibérée de cacher la réalité ?

Il faut rappeler que les farines pour le bétail, qui sont en général en cause, sont constituées en majorité de céréales (400 g/kg) et de tourteaux de soja (200 g/kg), avec 30 à 50 g de farines de viande. Cet apport complémentaire de farine d'origine animale, nous permet de limiter notre dépendance à l'égard des États-Unis, notre principal fournisseur en soja<sup>2</sup>. Ceci signifie que l'ajout de carcasses animales correspond à un problème purement économique. Selon Y. Montécot, président du Syndicat National des Industries de la Nutrition Animale, **le remplacement de ces farines animales par des tourteaux de soja coûterait à la France, par an, 3,5 milliards de francs...** Un manque à gagner certainement difficile à surmonter !!

En France, les arrêtés d'interdiction de l'utilisation des farines animales britanniques ont été pris en août 1989 pour l'alimentation des bovins et, en juin 1994, pour celle des ovins. Ceci n'a pas empêché, de janvier 1993 à mars 1996, l'importation en France de 153 900 tonnes de farines animales britanniques !! La France a donc continué, jusqu'en juin 1996, à importer des farines animales britanniques pour alimenter les porcs, les volailles, les poissons... Ceci est très inquiétant car, par exemple récemment, des chercheurs allemands ont mis en évidence des prions dans le cerveau de saumons alimentés avec des farines animales<sup>3</sup>. En fait, il ne s'agissait que de la protéine prion normale (PrP<sup>c</sup>), que l'on retrouve dans pratiquement tout le règne animal... l'alerte aurait pu être chaude !

L'origine exacte de l'agent de l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), au Royaume-Uni, n'est toujours pas établie. En fait, on ne sait pas encore si l'agent de la tremblante du mouton (prion ovin) est à son origine. L'hypothèse de l'amplification d'un prion bovin inconnu, amplifié grâce au recyclage des carcasses, ne peut être écartée. Ceci conforte l'hypothèse qu'il y a eu des cas sporadiques d'encéphalopathie spongiforme bovine bien avant 1986. Ainsi, un cas isolé fut décrit en France en 1883 par un vétérinaire qui, à l'époque, parlait de tremblante du bœuf !

L'étude de l'épizootie d'encéphalopathie spongiforme bovine, au Royaume-Uni, a bien mis en évidence le rôle majeur des farines animales dans la transmission de la maladie jusqu'en 1989 (date de leur interdiction). Comme l'indique la *figure 1*, cette épizootie est maintenant en déclin constant, une partie de la contamination actuelle étant peut-être liée à une transmission verticale de la vache au veau (passage *in utero* ?), contamination évaluée à environ 10 %<sup>4</sup>.

Comme indiqué sur ce diagramme (*figure 1*), la décroissance du nombre annuel de cas d'ESB, au Royaume-Uni, s'est amorcée en 1993.

Certaines modélisations mathématiques prévoient une **extinction de l'épizootie de la vache folle dans les cinq années** à venir, mais des données récentes indiquent néanmoins qu'il y aurait encore entre 800 et 1 800 nouveaux cas en 1999. En fait, **rien n'est certain**, car on ignore totalement comment, dans la réalité, va maintenant se propager la maladie chez les bovins et combien d'humains pourraient être contaminés... un dilemme assez inquiétant [16] !

L'incertitude est d'autant plus renforcée que le paramètre

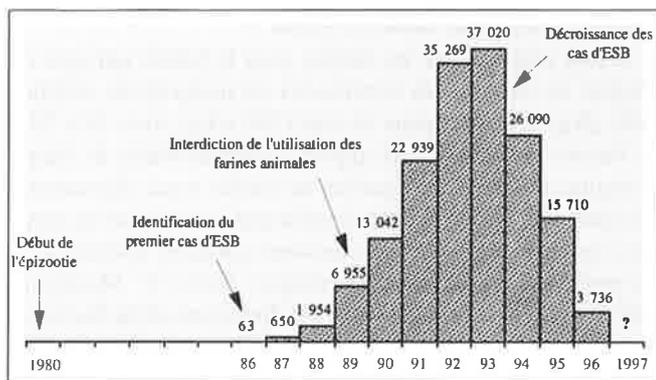


Figure 1 - Nombre annuel de cas d'encéphalopathie spongiforme bovine au Royaume-Uni (source : Office International des Epizooties, Atlanta, juin, 1996).

essentiel, qu'est le temps de latence entre l'infection et le début des signes cliniques, est actuellement totalement inconnu pour ce type d'épidémie.

### Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles chez l'Homme (ESST)

Des études récentes ont confirmé que le mouton, la chèvre, le chat et quelques espèces sauvages peuvent être contaminés par une nourriture à base de farines d'os et de viande de carcasses de bovins atteints de la maladie de la vache folle.

Mais qu'en est-il chez l'Homme ?

Chez l'Homme, quatre encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) sont actuellement décrites :

– Le **Kuru** qui touche les Fore, peuplade de Nouvelle-Guinée - Papouasie, contaminée lors de rites funéraires par la **consommation du cerveau** de leurs défunts, et qui concerne presque exclusivement les femmes et les enfants, seuls consommateurs des viscères (décès entre 3 à 6 mois). Les troubles nerveux observés sont proches de ceux de la tremblante du mouton : perte de la coordination des mouvements et démence (en dialecte Fore, « Kuru » signifie « tremble de frayeur »). En 1963, le chercheur américain **C. Gajdusek** (qui reçut le prix Nobel en 1976 pour ses travaux sur le Kuru, qu'il a décrit pour la première fois en 1957, alors que cette maladie semble être apparue vers 1900) réussit à transmettre cette maladie à un chimpanzé démontrant la présence d'un agent infectieux. Il mis aussi en évidence que des facteurs génétiques semblaient essentiels pour la transmission humaine [17].

– Le **syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker** (SGSS) décrit pour la première fois en 1936, et l'**insomnie fatale familiale** (IFF) signalée en 1992 sont deux **maladies héréditaires** très rares, dues à des mutations dans le gène du prion, et qui apparaissent vers 50 ans, avec une issue fatale rapide (de quelques semaines à quelques mois).

– La quatrième maladie, de loin la plus connue, est la **maladie de Creutzfeldt-Jakob** (MCJ) décrite en Allemagne en 1920-1921, et dont l'incidence est assez rare, car elle touche environ une personne sur un million (âge moyen 65 ans).

Dans sa forme classique, cette maladie est une **démence**

**profonde d'évolution rapide** (décès en moyenne dans les 6 mois) associée à des troubles de la motricité.

Si dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob, environ 85 % des formes sont d'origine inconnue, pudiquement surnommées « sporadiques », environ 10 % des cas sont héréditaires (mutation du gène PrP).

Par ailleurs, plusieurs cas ont été **transmis accidentellement**, par exemple lors de greffes (cornée, tympan, et surtout dure-mère) ou **à la suite d'administration d'hormone de croissance** extraite d'hypophyse de patients contaminés, extraits qui ne furent pas inactivés. Sur les 90 cas décrits dans le monde, consécutifs à un traitement contre le nanisme, 50 sont apparus en France (50 cas sur 1 000 patients traités, dont 42 sont décédés)... un bien triste record !

Globalement, la contamination par apport iatrogène serait de l'ordre de 3 %.

Toutes ces maladies à prions sont particulières car, comme cela a déjà été souligné, leur origine est à la fois infectieuse et génétique.

En effet, 10 à 15 % des cas de la maladie de Creutzfeldt-Jakob et la quasi-totalité des cas de syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker et d'insomnie fatale familiale sont d'origine génétique, terme à ne pas confondre avec celles de type familial, car par exemple, dans le premier cas, près des deux tiers de patients n'ont aucun parent atteint de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [18].

Il faut remarquer qu'il existe, dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob, plusieurs sous-types (ou profils) de prions pathogènes mis en évidence par leur différence de mobilité électrophorétique liée à leur poids moléculaire et à leur taux de glycosylation (pourcentage de glucides fixés sur la protéine). Deux de ces profils concernent les formes sporadiques, qui sont les plus courantes (profils 1 et 2), le troisième ayant été trouvé chez des malades contaminés par voie iatrogène (greffes, administration d'hormone de croissance ou d'hormone gonadotrope). Le quatrième type de prion (V-MCJ) a été identifié, en Grande-Bretagne, par **John Collinge** (octobre 1996) chez un des 15 jeunes adultes (âgés en moyenne de 29 ans) contaminés, selon toute vraisemblance, par la consommation d'abats provenant de vaches folles [13]. Cette nouvelle forme de maladie de Creutzfeldt-Jakob se caractérise, en plus du jeune âge des victimes, par une période d'incubation allongée, des signes cliniques différents (prédominance des signes cérébelleux) et la formation de nombreuses plaques amyloïdes constituées de PrP<sup>res</sup> (res : pour résistante aux protéases) dans le cerveau et le cervelet.

Pour la première fois, il est donc mis en évidence qu'une protéine pathologique humaine (V-MCJ) associée à l'infectiosité, et résistante à la protéase K, présente les mêmes caractéristiques biochimiques (même migration électrophorétique, même pourcentage des différentes formes glycosylées) que son homologue retrouvé chez les animaux infectés expérimentalement ou naturellement par l'agent de l'ESB [20].

Il faut remarquer que c'est l'apparition de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, annoncée par le secrétaire d'État à la Santé du Royaume-Uni, le 20 mars 1996, qui a déclenché la crise de la « vache folle », et qui a

apporté de sérieux arguments pour une transmission par voie alimentaire (surtout par les abats de type cervelle) de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine subaiguë à l'Homme.

En Europe, l'incidence de la maladie de Creutzfeldt-Jakob est relativement stable dans le temps et dans l'espace. A titre d'exemple, en France entre 1992 et 1995, 215 cas ont été recensés (chiffre ne prenant pas en compte les cas imputables à un traitement par l'hormone de croissance extraite d'hypophysés contaminés d'origine humaine).

Dans des articles, parus dans le premier numéro d'octobre 1997 de *Nature* (vol. 389), deux équipes de chercheurs britanniques, par des approches complémentaires, apportent la preuve (quasi irréfutable) que le prion d'origine bovine (ESB) est aussi responsable de l'apparition du nouveau type de maladie de Creutzfeldt-Jakob (V-MCJ), qui avait été détectée en Grande-Bretagne, en octobre 1996.

Ceci n'exclut nullement que des facteurs d'origine iatrogène (par exemple des insecticides organophosphorés) puissent avoir joué un rôle dans la dissémination de ces encéphalopathies spongiformes subaiguës.

### Le prion normal PrP<sup>c</sup> : une protéine du soi

La protéine prion de l'individu normal non contaminé, ou PrP<sup>c</sup> (c pour cellulaire), est une **glycoprotéine** (PM = 33 à 35 kDa, selon le taux de glucides). Cette isoforme est constituée, chez l'Homme, d'une chaîne polypeptidique de **253 acides aminés** (254 chez les bovidés), dont la séquence est connue depuis 1986. Elle est bien conservée au cours de l'évolution, car son degré d'homologie entre espèces est le plus souvent supérieur à 85 % [1, 8, 18, 23, 24].

Dans la structure de la protéine prion PrP<sup>c</sup>, on retrouve un **peptide signal** (SP) de 22 acides aminés, qui est clivé lors de la biosynthèse, après l'entrée dans le réticulum endoplasmique. Comme l'indique la *figure 2*, la **partie G-P** correspond à une région riche en motifs **glycine-proline**. La suite de la séquence comporte une région dite **96-112 STE** (stop tranfer effector) supposée contrôler la topologie de la protéine, puis une **région transmembranaire** (région TM) et enfin, une **zone** qui, d'après les meilleurs modèles actuels, contient **quatre structures en hélices  $\alpha$**  (H1 à H4).

Les cystéines 179 et 214, liées par un pont disulfure, contribuent à former une boucle sur laquelle se situent deux sites de glycosylation (sites -CHO). Enfin, la sérine 231 est liée à un enchaînement glycoposphatidylinositol (site GPI), qui permet à la protéine PrP<sup>c</sup> de s'ancrer sur la face externe de la membrane plasmique cellulaire. Fait surprenant, la PrP<sup>c</sup> est la première protéine dans laquelle la partie d'ancrage GPI est constituée principalement d'acide sialique.

La PrP<sup>c</sup> est codée par un gène unique, le gène PRNP, qui, chez l'Homme, est localisé sur le chromosome 20.

Le gène PRNP possède un polymorphisme naturel au niveau du codon 129 qui ne peut coder que pour une méthionine (Met) ou pour une valine (Val). Or, dans une protéine, l'interaction de deux méthionines ou de deux valines est

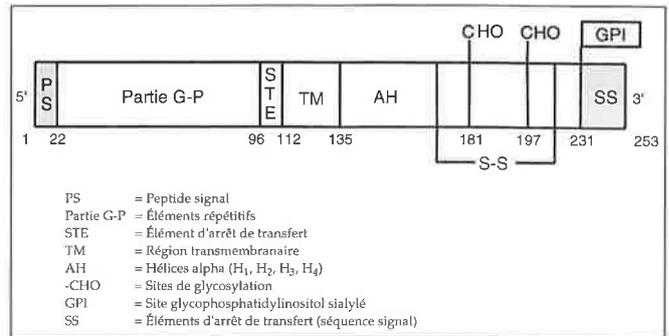


Figure 2 - Structure schématique de la protéine prion PrP<sup>c</sup> humaine.

souvent associée avec une **conformation de type feuillet bêta**. Il semblerait donc que la méthionine ou la valine en position 129 joue un rôle important en modulant l'interaction moléculaire entre deux isoformes de la protéine prion.

Dans la population générale, 50 % des individus sont homozygotes (40 % Met/Met et 10 % Val/Val) et 50 % sont hétérozygotes (Met/Val).

Dans les maladies de Creutzfeldt-Jakob sporadiques ou iatrogènes, l'homozygotie 129 Met/Met est un facteur de susceptibilité à l'infection. Par contre, l'hétérozygotie 129 Met/Val a peut-être un rôle protecteur. De ce fait, la sensibilité d'un individu à une maladie à prions apparaît être fortement sous contrôle génétique, comme du reste de nombreuses autres maladies infectieuses.

Le prion normal est synthétisé au niveau des ribosomes dans le réticulum endoplasmique rugueux, puis est modifié au niveau de sa partie glucidique dans l'appareil de Golgi. Il est finalement transporté au niveau de la membrane plasmique où il s'ancure sur la face externe grâce à un enchaînement glycoposphatidylinositol (GPI).

Cette protéine est formée dans presque tous les types cellulaires. Elle est principalement présente dans les neurones et à des concentrations beaucoup plus faibles dans les cellules gliales (cellules nourricières) du système nerveux central, et dans certaines cellules du système immunitaire.

La PrP<sup>c</sup> est, *in vivo*, synthétisée en quelques minutes mais est dégradée partiellement par les protéases comme la protéase K. Sa demi-vie est de 3 à 6 heures et celle de la PrP<sup>res</sup> est de plus de 24 heures (par exemple dans des cellules tumorales *in vitro*).

Les fonctions physiologiques de la PrP<sup>c</sup> ne sont pas connues pour l'instant, mais un rôle dans la transmission synaptique est souvent invoqué [21].

De même, les structures secondaires et tertiaires de la PrP<sup>c</sup> ne sont pas totalement établies par suite des difficultés à réaliser une analyse cristallographique précise.

Le problème actuel est lié à la détermination de la nature exacte de l'agent infectieux. Pour certains, la protéine mal repliée est à elle seule l'agent infectieux ; pour d'autres, elle serait associée à un agent infectieux encore inconnu. En théorie, **le prion pourrait exister sous deux formes** liées à son **mode de repliement** (folding protein) : une **forme normale la PrP<sup>c</sup>** et une **forme anormale la PrP<sup>res</sup>**, qui a la possibilité, lorsqu'elle est introduite dans une cellule, de favoriser le mauvais repliement des formes normales qui y préexistent [22].

## Comment différencier le prion normal PrP<sup>c</sup> d'un prion pathologique PrP<sup>res</sup> ?

Les **deux isoformes du prion** : la forme normale (PrP<sup>c</sup>) et la forme altérée dénommée PrP<sup>res</sup>, laquelle est fortement soupçonnée d'être infectieuse, possèdent une composition identique en acides aminés.

Par contre, ces deux isoformes d'une même protéine se différencient par leur **structure** secondaire déterminée par l'analyse spectrale (infrarouge, dichroïsme circulaire).

Pour sa part, la PrP<sup>c</sup> se replierait en une **structure compacte** dont le centre est formé de **quatre hélices alpha** regroupées par paires (*figure 3*).

Par contre, la protéine modifiée PrP<sup>res</sup> posséderait, à côté d'une faible proportion d'hélices alpha, une **majorité de chaînes bêta**, régions où le squelette polypeptidique est déroulé [22].

Ce **changement conformationnel**, événement essentiel dans la propagation et l'effet pathogène des prions, rendrait la PrP<sup>res</sup> beaucoup moins soluble et partiellement résistante aux enzymes de sa dégradation, en particulier à la protéase K.

C'est pour ces raisons que la PrP<sup>res</sup> va pouvoir s'accumuler à l'intérieur des cellules, en particulier dans les lysosomes, et devient ainsi toxique pour les neurones.

Ce changement de conformation entre des structures en hélices  $\alpha$  et des structures en feuillets  $\beta$ , qui permet à la protéine modifiée PrP<sup>res</sup> de s'agréger et d'acquérir sa résistance à la protéase K, conduit à la formation de fibrilles et de plaques amyloïdes, que l'on décrit parfois au niveau du cerveau, comme cela est aussi observé classiquement pour d'autres protéines dans la **maladie d'Alzheimer**.

Récemment, un anticorps monoclonal (anticorps 15B3), capable de reconnaître spécifiquement la forme pathologique du prion (PrP<sup>res</sup>) a été préparé, ce qui constitue une première avancée vers la mise au point d'un diagnostic spécifique des maladies à prions [44].

## Comment le prion devient-il pathogène ?

Selon certains auteurs, la transformation des hélices alpha en feuillets bêta jouerait le rôle moteur dans l'acquisition du pouvoir pathogène [23], comme l'indique la *figure 3*.

Or, fait étonnant (un de plus), la protéine normale PrP<sup>c</sup> est absolument nécessaire à la propagation de l'infection et, lors d'une transmission expérimentale, c'est la protéine pathogène PrP<sup>res</sup> de l'hôte qui s'accumule et non celle du donneur !!

Il semble donc admis que la présence de la protéine normale (PrP<sup>c</sup>) soit requise pour que s'exprime la toxicité de la protéine pathologique (PrP<sup>res</sup>). Un phénomène de ce type (et qui rappelle la notion d'hérédité cytoplasmique) a été décrit chez la levure dans laquelle le transfert de type génétique peut, chez certains mutants, s'effectuer par le cytoplasme (cytoduction) et non par le noyau [11b].

De ce fait, l'hypothèse la plus communément admise, actuellement, fait intervenir une interaction protéine/protéine au cours de laquelle la protéine modifiée PrP<sup>res</sup> entraîne le **changement conformationnel** de la protéine normale PrP<sup>c</sup> en PrP<sup>res</sup>, et ceci de façon **quasi autocatalytique et irréver-**

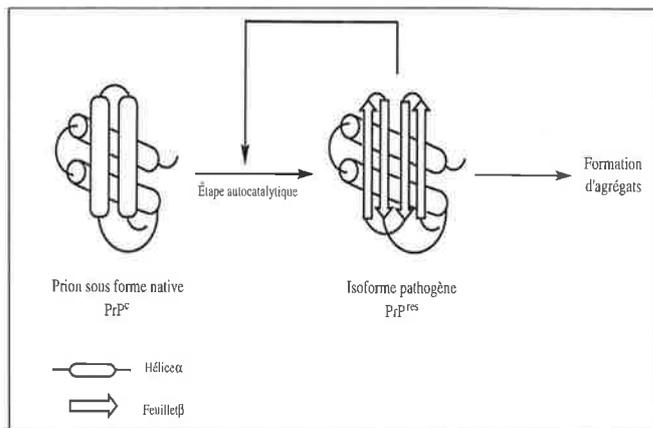


Figure 3 - Modèle structural proposé par S. Prusiner [26] pour le passage du prion PrP<sup>c</sup> à son isoforme pathologique PrP<sup>res</sup>.

sible [24]. Selon S. Prusiner, le prion PrP<sup>c</sup>, pour se replier de façon anormale, s'associerait avec une protéine chaperon<sup>5</sup> [25], dénommée protéine X, qui interviendrait sur la partie du prion commune aux différentes espèces (bovins, souris, hamster, Homme) et qui serait apportée par l'hôte. Ceci permettrait d'expliquer pourquoi le prion est capable de franchir la barrière d'espèce, c'est-à-dire de pouvoir infecter des espèces différentes par exemple de la vache vers l'Homme.

Cette barrière d'espèce correspond donc à la résistance à l'infection liée à des prions, observée lors des essais de transmission d'une espèce à une autre espèce, et qui entraîne toujours une augmentation importante du temps d'incubation de la maladie.

Le fait que les souris transgéniques dépourvues de prions PrP<sup>c</sup> (ou souris Knock-out) soient viables, résistantes à l'encéphalopathie spongiforme, et ne présentent que des altérations sans conséquences de la transmission synaptique, suggère que l'effet toxique de la PrP<sup>res</sup> ne provient pas d'une perte de fonction de la PrP<sup>c</sup>.

Il est évident que le mécanisme pathogène des encéphalopathies spongiformes transmissibles est complexe. S'il est probable que la protéine PrP<sup>res</sup> joue un rôle essentiel dans ces maladies, d'autres facteurs doivent aussi intervenir.

Un point important, qui demanderait des recherches plus approfondies, concerne le mécanisme de la neurotoxicité de la protéine PrP<sup>res</sup>. Cette toxicité semble résulter de **deux mécanismes complémentaires**. D'une part, l'**accumulation de la PrP<sup>res</sup> dans les neurones** entraîne une toxicité directe, selon un mécanisme encore inconnu, qui aboutirait à une perturbation de la transmission synaptique [27]. Par ailleurs, **la présence de prions PrP<sup>res</sup> dans les cellules gliales** ou dans tout environnement direct pourrait déclencher une agression oxydante avec formation d'anion superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) et d'oxyde d'azote ( $\text{NO}$ ) qui, par interaction mutuelle, forment de l'anion peroxy-nitrique ( $\text{O}=\text{N}-\text{O}-\text{O}^-$ ), lequel entraînerait, par **apoptose**, la mort des neurones [28].

Il semble donc que la microglie joue un rôle essentiel comme médiateur de la mort neuronale, responsable en final de la neurodégénérescence du SNC.

Dans ce contexte, des antioxydants devraient diminuer la progression du processus d'apoptose, mais les essais thérapeutiques de ce type sont restés jusqu'à présent décevants.

## Existe-t-il des pathologies autres que les maladies à prions et qui sont associées à un repliement incorrect de protéines ?

Comme la recensé Jeannine Yon-Kahn dans son excellent article sur les prions [29], actuellement 16 protéines ont été caractérisées comme étant susceptibles d'entraîner *in vivo* la formation de fibrilles amyloïdes toxiques. Dans certaines circonstances, ces protéines peuvent s'assembler pour former des fibres de 6 à 10 nm dont l'accumulation au niveau du système nerveux central entraîne une neurotoxicité.

Parmi ces protéines susceptibles d'un repliement anormal, on trouve la protéine  $\beta$  amyloïde présente dans la maladie d'Alzheimer, ainsi que la transthyréline, protéine plasmatique transporteur de la thyroxine (hormone thyroïdienne) dont le dysfonctionnement peut conduire chez le sujet âgé (80 ans) à une amyloïdose systémique sénile.

Des phénomènes dégénératifs du système nerveux central sont aussi observés avec l'insuline (amyloïdose au point d'injection), les chaînes légères des immunoglobulines (amyloïdose systémique primaire), le fibrinogène (amyloïdose rénale héréditaire)...

Toutes ces protéines, par un changement de conformation, peuvent conduire à la formation d'un intermédiaire de repliement à partir duquel, par autoassemblage, peuvent se former des fibrilles amyloïdes, génératrices des plaques séniles.

Le mécanisme commun aux protéines prions ainsi qu'à toutes ces protéines, impliquées dans des rôles physiologiques très divers, est qu'elles peuvent, par changement de conformation, former des fibrilles amyloïdes. Celles-ci sont caractérisées par une répétition de motifs en feuillet  $\beta$ , entraînant leur insolubilisation avec précipitation sous forme de plaques amyloïdes.

Il faut remarquer que la présence de protéines chaperons empêche cette agrégation fibrillaire.

## Et si l'agent infectieux des ESST n'était pas uniquement la protéine prion ?

Dans le numéro de la revue américaine *Science* du 17 janvier 1997 [30], Corinne Lasmézas, de l'équipe dirigée par Dominique Dormont (CEA et service de Santé des Armées) et à laquelle étaient associés des chercheurs du CNRS et de l'INSERM, postule, grâce à des travaux sur la souris, que l'agent principal, responsable des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST), ne serait pas la protéine prion résistante à la protéase K (PrP<sup>res</sup>), mais un autre agent de nature encore inconnue, peut-être un acide nucléique très petit (infravirus ou virino) capable de se répliquer chez l'hôte, même en l'absence de prion.

Selon cette hypothèse qui reste à démontrer, la protéine prion (PrP<sup>res</sup>) n'apparaîtrait que sous l'action de ce facteur infectieux inconnu. Ceci permettrait de dissocier le caractère infectieux, lié à cet agent, du rôle de la protéine prion impliquée dans l'action pathogène.

D'autres transmissions d'ESST, sans accumulation de PrP<sup>res</sup>, ont été rapportées dans la littérature.

Le mystère de l'origine des maladies à prions continue donc à s'épaissir mais ceci ne peut être qu'un stimulant pour approfondir ce défi lancé à la biologie moléculaire [31].

## Quels sont les risques de transmission à l'Homme ?

Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) sont transmissibles expérimentalement à l'animal, mais cela dépend beaucoup de la barrière d'espèce.

Ainsi la maladie de Creutzfeldt-Jakob se transmet à la souris, au cobaye, au hamster et au singe, et comme nous l'avons vu précédemment, de l'Homme à l'Homme. Ce **phénomène de barrière d'espèce** est, en santé publique, l'élément critique dans l'appréciation des risques liés aux prions.

Si la transmission au sein d'une même espèce est efficace à 100 % (par exemple Homme-Homme), celle-ci n'est plus que de 20 % dans le cas Homme-souris.

C'est le gène de la PrP qui règle ce phénomène de barrière d'espèce. Il contrôle aussi la susceptibilité individuelle et la durée de la période d'incubation.

La nature des tissus ou des organes, responsables de la transmission des maladies à prions, est déterminante. C'est le système nerveux central (cerveau...) qui est le plus infecté et sera, de très loin, le plus dangereux pour l'Homme en terme de santé publique. Il en est de même pour des organes annexes comme les yeux (rétine).

Les tissus lymphoïdes (thymus, amygdales, intestin...), la rate, le placenta, sont aussi de bons vecteurs de l'agent transmissible.

Les muscles squelettiques, les reins, le cœur, mais aussi les globules rouges, le sérum, le lait, la salive, le sperme, n'ont jusqu'à présent jamais pu être associés à la transmission de la maladie.

En 1991, l'OMS a pu établir, à partir des modèles animaux, une liste des tissus à risque répartis en cinq catégories comme l'indique le *tableau I*.

En fait, il faut **écarter de l'alimentation humaine**, en premier lieu, le **cerveau** et ses annexes (**œil**), ainsi que la **moelle épinière**, mais aussi par prudence, les intestins, la rate, le thymus, les amygdales, les ganglions lymphatiques et même le foie.

En ce qui concerne la viande de bœuf, selon Dominique Dormont, « *le risque est tout à fait minime, si les règlements sont respectés, si les animaux malades sont éliminés de la chaîne alimentaire, si les farines animales ne sont plus données aux ruminants et si l'embargo sur la viande bovine britannique est efficace* ».

Il faut en effet être très prudent en ce qui concerne certains morceaux de viande : ainsi le gouvernement britannique a annoncé, le 3 décembre 1997, des mesures visant à interdire la commercialisation de la côte de bœuf et de la queue de bœuf. Ces morceaux de viande sont en effet proches de la colonne vertébrale et des ganglions rachidiens dorsaux, lesquels seraient susceptibles d'être contaminés par les prions pathogènes.

Tableau I - Classification selon l'OMS des tissus en fonction de leur infectiosité (OMS, 1991)<sup>6</sup>.

Catégorie	Niveau d'infectiosité	Type de tissu
I	Haute infectiosité	cerveau, moelle épinière, rétine (yeux)
II	infectiosité moyenne	amygdales, rate, ganglions lymphatiques, iléon, côlon proximal, placenta
III	infectiosité faible	nerf sciatique, hypophyse, surrénales, côlon distal, muqueuse nasale
IV	infectiosité minime	thymus, moelle osseuse, foie, poumons, pancréas, liquide céphalo-rachidien
V	infectiosité non détectable	muscles, cœur, reins, thyroïde, ovaire, utérus, glande mammaire, testicules, vésicule séminale, sérum, caillot sanguin, lait, colostrum, fèces

La voie d'introduction des prions est un paramètre essentiel dans la transmission des agents transmissibles non conventionnels. Expérimentalement, si la voie intracérébrale est de loin la plus efficace, la voie orale est, par contre beaucoup moins évidente. Néanmoins, une étude chez les bovins a montré qu'un gramme de tissu cérébral de bovin atteint d'encéphalopathie spongiforme subaiguë transmissible (ESST) donné par voie orale, suffit à provoquer la maladie chez cette espèce. En expérimentation animale, il faut chez le hamster syrien (souche 263 K) inoculer près de 100 000 molécules de PrP<sup>res</sup> pour voir apparaître la maladie [14b].

Chez les bovins britanniques, on ne peut que s'interroger sur les implications éventuelles des injections d'hormone de croissance contaminée (l'usage illicite de l'hormone somatotrope est très à la mode dans certains élevages).

La période d'incubation varie en fonction de la voie d'introduction : par voie intracérébrale, comme dans le cas de la contamination chirurgicale (greffe de dure-mère...), la période d'incubation varie de quelques mois à quatre ans.

En revanche, après traitement par voie périphérique avec des extraits hypophysaires humains (hormone de croissance), la période d'incubation varie de cinq à trente cinq ans.

Jusqu'à présent, dans les conditions d'une transfusion sanguine, les maladies à prions n'ont jamais pu être transmises, mais néanmoins des expériences animales, avec du sang provenant d'un animal contaminé, ont mis en évidence des possibilités de transmission lorsque l'inoculation se fait par voie intracérébrale. Ceci ne peut inciter qu'à une très grande prudence en ce qui concerne les produits d'origine sanguine qui doivent être soumis à des contrôles rigoureux.

Récemment, l'équipe de John Collinge, a mis en évidence que les prions pathogènes présents dans le cerveau d'une des victimes atteintes de maladie de Creutzfeldt-Jakob (variété V-MCJ) peuvent aussi être caractérisés au niveau de ses amygdales. Ceci laisse présager la mise au point d'une technique diagnostique basée sur une simple biopsie amygdalienne. Par ailleurs, cela doit aussi inciter les chirurgiens ORL effectuant des amygdalectomies, à détruire après intervention, leur matériel chirurgical. Il est déjà recommandé en neurochirurgie de détruire rapidement les instruments qui ne

supportent pas les procédures de stérilisation efficaces contre les prions, et qui ont été utilisés chez des patients atteints de maladie de Creutzfeldt-Jakob.

Une analyse de la littérature jusqu'en 1994 répertorie 33 travailleurs de santé (chirurgiens, pathologistes, personnels de morgues, histologistes, médecins, infirmières, dentistes, techniciens de laboratoire...) décédés de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [32], et l'hypothèse d'une contamination d'origine professionnelle n'est pas, dans certains cas, à exclure mais demande à être confirmée [32]. Il est évident, qu'au niveau de la prévention, tout le personnel participant à des autopsies ou à des examens anatomo-pathologiques doit être d'une vigilance extrême.

### Le prion : une protéine d'une incroyable résistance

Contrairement aux protéines classiques, les prions présentent une résistance exceptionnelle à la majorité des techniques généralement utilisées pour les inactiver, et ceci les distingue ainsi nettement des bactéries et des virus [31-34].

Ainsi, leur thermostabilité est tout à fait remarquable : 360 °C pendant 1 heure, en atmosphère sèche, ne suffit pas à les inactiver totalement !

De même, ils résistent partiellement en milieu sec à 160 °C durant 24 heures, ou à un autoclavage à 121 °C durant 1 heure !

Seule la chaleur humide permet de les inactiver à des niveaux compatibles avec les exigences de la santé publique : l'Organisation Mondiale de la Santé recommande un autoclavage à 134 °C durant 18 minutes sous 3 bar. Selon le type de souche de prions, on observe des variations importantes de sensibilité à l'autoclavage, ce qui complique la mise en place de normes de sécurité.

Les rayonnements ionisants sont peu efficaces sur les prions : les doses utilisées classiquement en stérilisation (25 kg) sont sans effets.

Les rayonnements non ionisants comme les ultraviolets, mais aussi les ultrasons sont inefficaces sur les prions.

Parmi les composés chimiques actifs sur les prions, on peut citer : **la soude**, une base minérale forte, et **l'hypochlorite de sodium**, un agent oxydant très actif. D'autres pro-

duits chimiques comme le formaldéhyde, les détergents sont inefficaces.

En définitive, une décontamination notable de façon usuelle peut être obtenue :

- par autoclavage à 134 °C pendant au moins 18 minutes sous 3 bar,
- par traitement par de la soude N (40 g/l) durant 1 heure à 20 °C,
- par action de l'eau de Javel à 6 % à 20 °C durant 1 heure.

Les deux produits chimiques utilisés, étant corrosifs pour les matériels et dangereux pour les personnels, seront donc mis en œuvre en appliquant les mesures de protection individuelle et collective adéquates.

Pour inactiver des homogénats de tissus infectés par les prions, il faut effectuer un prétraitement durant 1 heure avec la soude N, puis faire un autoclavage à 121 °C durant trente minutes.

Il est évident que la meilleure technique pour détruire les carcasses de bétail contaminées est **l'incinération**, mais celle-ci doit être menée de façon rigoureuse.

### En laboratoire, les consignes de sécurité doivent être drastiques

La transmission, semble-t-il facile entre certaines espèces, la résistance aux traitements classiques de dénatura-tion (chaleur, UV, aldéhydes...) doivent inciter tous les manipulateurs de tissus nerveux animaux ou humains, à respecter au maximum les consignes de sécurité (lunettes de protection, gants renforcés, etc.), et éviter toute blessure avec les objets coupants ou des seringues, ainsi qu'avec tout matériel contaminé.

Il faut se souvenir que la fixation des coupes histologiques au formol, non seulement n'inactive pas les prions, mais pire, provoque une résistance plus grande du prion à la décontamination ultérieure. Par ailleurs, le **prion reste contaminant des années sur les lames d'examen histologique de tissus** ayant subi toutes les techniques préparatoires (fixation au liquide de Bouin, déshydratation, inclusion, coloration...). Tous les matériels de laboratoire, pouvant supporter un traitement à l'eau de Javel à 6° chlorométrique ou à la soude N, ou qui sont thermostables (à 120-130 °C), peuvent être décontaminés de façon efficace.

Tout matériel histologique (échantillons fixés et inclus...) sera toujours considéré comme très infectieux [33].

En France, une circulaire du ministère de la Santé [34b] donne des consignes à respecter au terme d'une évaluation du risque qui tient compte à la fois du sujet (à ou sans risque) et des tissus concernés (groupe 1 ou 2 et groupe 3 ou 4 selon la classification de l'OMS).

Tous les déchets et matériels contaminés à usage unique seront autoclavés à 135 °C sous 3 bar, avant d'être éliminés dans des conteneurs étanches vers un centre d'incinération agréé pour les déchets spéciaux.

L'incertitude actuelle sur la nature exacte du prion et sur ses voies réelles de transmission ne peut qu'inciter à une très grande prudence, comme pour tout risque biologique mal défini [33].

En cas d'exposition accidentelle aux prions, par exemple par inoculation intradermique, A. Aguzzi et J. Collinge [45] proposent d'associer l'excision du site d'inoculation à un traitement immunosuppresseur à base de corticoïdes (Prédnisone), sans oublier une antibiothérapie adaptée et, pour faire bonne mesure, une protection gastrique par un anti-H<sub>2</sub>. Bien entendu, l'efficacité de cette thérapie reste à démontrer !!

### Conclusion : les maladies à prions, un problème de société à résoudre rapidement

Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST), médiatisées depuis une dizaine d'années par l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ou maladie de la vache folle, constituent un problème majeur surtout pour l'Europe. Elles touchent à la fois la santé publique et donc le monde scientifique, mais aussi l'économie et, plus globalement les milieux politiques. En effet, certains n'hésitent pas à relier le développement des élevages industriels à l'extension de ce type d'épizootie.

Il est évident que, selon le **principe de précaution**, il aurait fallu, dès 1989, exclure dans tous les pays l'utilisation de farines animales dans toute nourriture des animaux d'élevage (y compris les porcs et les poissons).

Dans l'état actuel de nos connaissances, la prévention la plus adaptée passe par la suppression dans l'alimentation humaine de toute source potentielle de contamination d'origine bovine. Il faut, dans ce sens, associer d'une part **l'interdiction totale de la consommation par l'Homme de tissus bovins susceptibles d'être contaminés** (cerveau, riz de veau, etc.) et, d'autre part, **l'abattage de tous les animaux potentiellement contaminés** avec, en final, destruction totale par incinération de leurs carcasses.

De sévères critiques ont été émises, en particulier, par la mission d'enquête du Parlement européen, présidée par **Rheine Böge** (député européen allemand), dont le rapport a été adopté par l'Europarlament le 6 février 1997, mais aussi par la mission parlementaire de l'Assemblée nationale française, dirigée par le professeur **Jean-François Matteï** (député des Bouches-du-Rhône) dont le rapport a été rendu public le 21 janvier 1997 [35 a].

Toutes ces critiques accablantes, vis-à-vis de la Grande-Bretagne et de l'Union européenne, mais aussi, en partie dans le rapport du docteur J.-F. Matteï contre l'administration française, montrent que la responsabilité dans le drame de la vache folle a été réellement collective.

Ceci a contraint la Commission européenne à se réformer en profondeur en ce qui concerne la protection de la santé humaine alimentaire [35 b et c].

Le principe en est simple : séparer les services élaborant les textes réglementaires de ceux chargés du contrôle des produits ou de l'expertise scientifique.

En particulier, l'organisation de ces comités scientifiques et vétérinaires a été revue. De la direction générale de l'Agriculture (DG 6), ils sont passés sous la direction générale chargée de la politique des consommateurs (DG 24). Ceci devrait permettre de mieux garantir l'indépendance des experts et éviter ainsi toute pression politique.

Plus globalement, l'Union européenne va se doter d'une Agence de santé publique, indépendante, capable d'organiser un véritable système d'expertise qui ne soit plus un savant équilibre de **comités scientifico-politiques**. Par ailleurs, la Commission européenne a lancé un plan d'action visant à stimuler les recherches sur le ESB [35 c].

Comme l'a dit si justement Anne-Marie de Recondo dans la *Lettre des Sciences de la Vie du CNRS* [36] : « *il ne suffit pas que les experts apportent une réponse claire aux problèmes des prions, comme il le leur est demandé au haut niveau, ce sont les politiques qui en dernier lieu doivent prendre la mesure de leur rôle et assumer pleinement leur responsabilité* ».

En effet, cette grave crise de la vache folle aura parfaitement mis en évidence la **complexité des rapports pouvant exister entre les experts**, disposant de l'information scientifique, **et le pouvoir politique**, qui doit prendre les décisions finales. Si l'expert et le politique peuvent parfois former un mélange explosif, il n'en demeure pas moins que le politique serait bien inspiré de choisir ces experts en privilégiant la qualité scientifique [47].

Force est de constater que, depuis 20 ans, il ne passe pas d'année sans voir apparaître dans le monde de nouveaux agents infectieux (virus VIH, Ebola...), voire des maladies infectieuses d'origine inconnue comme les encéphalopathies spongiformes liées aux prions. Ces maladies à prions sont des maladies rares, toujours fatales, caractérisées par des atteintes du système nerveux central graves touchant l'Homme et plusieurs espèces de mammifères, et pour lesquelles on ne dispose actuellement d'aucune thérapie. Chez le hamster infecté par le prion de la tremblante du mouton, le traitement par le rouge Congo ou par une anthracycline (4'-iodo-4'-déoxydoxorubicine) [37] inhibe l'accumulation intracérébrale de la Pr<sup>Pres</sup> et prolonge le temps de survie des animaux d'expérience... peut-être une piste intéressante ?

D'autres molécules comme les amphotéricines ou des polyanions sulfatés sont actuellement testées, mais les résultats ne sont pas encore connus.

Par ailleurs, l'une des difficultés principales pour l'étude épidémiologique de ces maladies chez l'Homme est **qu'il n'existe actuellement aucun test biologique** non traumatisant permettant d'affirmer sans ambiguïté le diagnostic de ces ESST.

Selon l'hypothèse actuellement privilégiée, les encéphalopathies spongiformes subaiguës (ESST) seraient dues à des agents transmissibles non conventionnels, dénommés prions. Le prion est une protéine cellulaire, au rôle encore inconnu, et qui, fait étrange, pourrait, en changeant de conformation, conduire à une isoforme à caractère pathogène qui s'accumule dans le cerveau à l'état d'agrégats insolubles. Mais pour une minorité de scientifiques, la présence d'un très petit acide nucléique, non encore détecté, serait indispensable pour la transmission des maladies à prions.

Dans ce contexte d'incertitude, il serait pertinent de méditer sur la recommandation du prix Nobel C. Gajdusek aux experts de l'OMS, en avril 1996 : « *Soyez prudents en supposant que nous connaissons la source ou la voie de contamination. Acceptez votre ignorance* » [12c].

Il est donc primordial de développer la recherche fondamentale sans laquelle aucune avancée thérapeutique rationnelle ne sera possible.

Situées à l'interface des maladies infectieuses et des maladies dégénératives du système nerveux central, les encéphalopathies subaiguës spongiformes (ESSB), constituent incontestablement un domaine de recherche à privilégier... ainsi récemment, une mutation dans le gène de la protéine prion a été impliquée, chez l'Homme, dans des troubles psychiatriques atypiques [46], une piste très intéressante à suivre.

Ainsi, il est très important que soient précisés les mécanismes de propagation de l'agent transmissible dans le système nerveux central et aussi entre espèces (par exemple de la vache à l'Homme) afin d'élaborer des stratégies de prévention efficaces.

En toxicologie moléculaire, il serait judicieux de développer l'étude des protéines toxiques mal repliées, ainsi que des recherches sur les xénobiotiques capables de participer au développement d'encéphalopathies spongiformes. Si l'on retient, comme hypothèse, une origine iatrogène des ESST, quelques pistes seraient à privilégier : ainsi, récemment en France, vient d'être décrit un cas de maladie dit de Pseudo-Creutzfeldt-Jakob chez un patient atteint de psychose mania-co-dépressive (PMD) et traité pendant 18 ans par du lithium [38]. L'utilisation de sels de lithium dans ces pathologies date de 1974, et seulement deux autres cas de ce type d'accident iatrogène ont été décrits dans le monde.

L'accumulation dans le tissu cérébral de certains autres éléments minéraux, comme les métaux dits « lourds » (Hg, Pb, Cd) ou des métaux apparentés (Bi, Tl...) et qui seraient capables d'initier des réactions d'agression oxydante, pourrait aussi participer au développement d'encéphalopathies de ce type, mais tout reste à découvrir dans ce domaine [39]. Le rôle éventuel de l'aluminium (Al) et du manganèse (Mn) dans certaines encéphalopathies a aussi été avancé, mais les mécanismes mis en jeu sont certainement très variés.

Dans les familles des composés organiques, les effets à long terme des insecticides organophosphorés, en particulier par voie transplacentaire, seraient à prendre en considération, car aucune piste ne doit être négligée.

Par ailleurs, dans le domaine de la drogue, des encéphalopathies spongiformes ont été décrites chez des héroïnomanes qui inhalent des vapeurs d'héroïne pour, selon leur dire, « chasser les démons » [40], et cette approche « originale » mériterait aussi d'être explorée.

Il est indéniable que la crise de la vache folle a accéléré, en France, une sensibilisation à l'égard des thèmes liés à l'environnement et à la sécurité alimentaire [41]. Selon le sociologue Denis Stoclet « *l'affaire de la vache folle va accélérer la montée en puissance de l'implication écologique des consommateurs, une sensibilité qui est en train de se transformer en exigence consumériste* » [42]... La ferme opposition de l'Union européenne à l'utilisation des hormones en élevage en est certainement un premier signe.

Espérons que l'avenir lui donne raison et que les graves menaces potentielles que font courir les pollutions de toute nature (pollution urbaine, pollution des eaux...) qui nous

accablent, mais aussi les épizooties d'origine inconnue qui peuvent apparaître, soient de plus en plus sérieusement prises en compte, tant par les scientifiques que par les décideurs politiques, afin de développer une réelle culture de sécurité adaptée aux situations de crise [43, 47].

### Remerciements

Je tiens à remercier pour leur aide efficace, Caroline Séverac et Liliane Godin (UPS 831, CNRS), ainsi que les professeurs Dominique Dormont (Service de neurovirologie, CEA, Fontenay-aux-Roses), Marc Bonneau (École vétérinaire, Lyon) et Jean-Dominique Puyt (École vétérinaire, Nantes) pour leurs suggestions pertinentes.

### Notes

- 1 Néanmoins, les cellules dendritiques (tissu lymphatique) tout comme les tissus nerveux périphériques pourraient être impliqués dans la propagation des prions, de leur site d'introduction (intestin par exemple) jusqu'au système nerveux central [9].
- 2 En France, on utilise actuellement, pour l'alimentation du bétail, 550 000 tonnes de farines animales, ce qui permet d'économiser l'importation des États-Unis d'environ 800 000 tonnes de tourteaux de soja.
- 3 Revue *Focus* (mars 1997).
- 4 En 1996, M. Purdey [12d] a émis l'hypothèse que les traitements antiparasitaires dermiques contre le varron, à base d'insecticides organophosphorés et qui, fait étrange, ne furent appliqués de façon intensive entre 1980 et 1990 qu'au Royaume-Uni (mais aussi en Suisse : pays où il y a 234 cas d'ESB déclarés et qui n'a pratiquement pas importé de farines animales britanniques...) pourraient bien être incriminés dans la transmission mère-veau. Selon ce chercheur britannique, le blocage par phosphorylation de sites actifs de certains acides aminés de la PrP<sup>C</sup> pourrait être impliqué au niveau du SNC de l'embryon bovin dans la transformation de la PrP<sup>C</sup> en PrP<sup>Sc</sup>.
- 5 La plupart des protéines acquièrent leur structure finale tridimensionnelle native grâce à l'assistance de protéines dites chaperons.
- 6 OMS, *Report of the WHO consultation on public health issues related to animal and human spongiform encephalopathies 1991*, WHO/CDS/VPH/92, 1991, 104.

### Références

- [1] a) Prusiner S., Collinge J., Powell J., Anderton B., *Prion diseases of Humans and Animals*, Ellis Horwood, London, 1992. b) Prusiner S., Les maladies à prions, *Pour la Science*, mars 1995, p. 42-50. c) Prusiner S., Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie, *Science*, 1982, 216, p. 136-144.
- [2] Alper T., Does the agent of scrapie replicated without nucleic acid?, *Nature*, 1967, 214, p. 764-766.
- [3] Griffith J.S., Self-replication and scrapie, *Nature*, 1967, 215, p. 1043-1044.
- [4] Latarget R., Muel B., Haig D., Clarke M.C., Alper T., Inactivation of the scrapie agent by near monochromatic ultraviolet light, *Nature*, 1970, 227, p.1341-1343.
- [5] Prusiner S.B., Hadlow W.J., Garfin D.E., Cochran S.P., Race R.E.B., Eklund C.M., Partial purification and evidence for multiple molecular forms of the scrapie agent, *Biochemistry*, 1978, 17, p. 4993-4999.
- [6] Bruce M.E., Will R.G., Ironside J.W., McConnell I., Drummond D., Suttle A., McCardel L., Chree A., Hope J., Birkett C., Cousens S., Fraser, Bostock C.J., Transmissions to mice indicate that « new variant CJD » is caused by the BSE agent, *Nature*, 1997, 389, p.498-501.
- [7] Almond J., Pattison J., Human BSE, *Nature*, 1997, 389, p. 437-438.
- [8] a) Collinge J., Sidle K., Meads J., Ironside J., Hill A., Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of « new variant » CDJ, *Nature*, 1996, 383, p. 685-690. b) Collinge J., Palmer M.S., *Prion diseases*, Oxford University Press, Oxford, 1997.
- [9] a) Aguzzi A., Neuro-immune connection in spread of prions in the body?, *Lancet*, 15 mars 1997, 349, p. 742-743. b) Aguzzi A., Weissmann Ch., Prion research : the next frontiers, *Nature*, 1997, 389, p.795-798.
- [10] Cuillé J., Chelle P.L., La maladie dite tremblante du mouton est-elle inoculable?, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1936, 203, p. 1552-1554.
- [11] a) Court L., Dodet B., *Transmissible subacute spongiform encephalopathy : prion diseases*, Elsevier, Amsterdam, 1996. b) Wickner R., *Prion diseases of mammals and yeast : molecular mechanism and genetic features*, Springer, Paris, 1997.
- [12] a) Reibel S., *Encéphalopathie spongiforme bovine. Épidémiologie et implications*, Polytechnica, Paris, 1994. b) Moreau J.P., La maladie de la vache folle est-elle oui ou non transmissible à l'Homme?, *Courrier de l'Environnement de l'INRA*, décembre 1996, 29, p. 81-84. c) Proust A., *Courrier de l'Environnement de l'INRA*, avril 1997, 30, p. 81-82. d) Purdey M., The UK epidemic of BSE : slow virus or chronic pesticide initiated modification of prion protein?, *Part 1. Part 2. Medical hypotheses*, 1995, 46, p. 428-443 et p. 445-454.
- [13] Wilesmith J.W., Ryan J.B.H., Atkinson M.J., Bovine spongiform encephalopathy : epidemiological studies on the origin, *Vet. Rec.*, 1992, 128, p. 199-203.
- [14] a) Dormont D., Brugere-Picoux J., Chatelain J., Laplanche J.L., Deslys J.P., Les encéphalopathies spongiformes : de la vache folle à l'Homme, *La Recherche*, avril 1992, 23, p. 446-453. b) Lasmez C., Deslys J.P., Robain O., Dormont D., L'agent secret des maladies à prions. *La Recherche*, juin 1997, p. 46-52.
- [15] Dormont D., Alperovitch A., Maladie de la vache folle, maladie de Creutzfeldt-Jakob : la parole aux scientifiques, *Recherche et Santé*, 1996, 68, p. 12-19.
- [16] Bursaux E., Encéphalopathie spongiforme bovine : où la modélisation mathématique tente de pallier l'ignorance biologique. *Médecine/Sciences*, décembre 1996, 12, p. 1453-1456.
- [17] Gajdusek D.C., Transmissible and non-transmissible amyloïdoses : autocatalytic post-translational conversion of host precursor proteins to beta-pleated sheet configurations, *J. Neuro. immun.*, 1988, 20, p. 95-110.
- [18] Prusiner S.B., Biology and genetics of prion diseases, *Ann. Rev. Microbiol.*, 1994, 48, p. 655-686.
- [19] Collinge J., Sidle K.C.L., Meads J., Ironside J., Hill A.F., Molecular analysis of prion strain variation and the etiology of new variant CJD. *Nature*, 1996, 383, p. 685-690.
- [20] Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M., Cousens S.N., Estibeiro K., Alperovitch A., Poser S., Pochidri M., Hofman A., Smith P.G., A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK, *Lancet*, 1996, 347, p. 921-925.
- [21] Collinge J., Whittington M.A., Sidle K.C., Smith C.J., Palmer M.S., Clarke A.R., Jefferys J.G., Prion protein is necessary for normal synaptic function, *Nature*, 1994, 370, p. 295-297.
- [22] Nguyen J., Baldwin M.A., Cohen F.E., Prusiner S.B., Prion protein peptides induced alpha-helix to beta-sheet conformational transitions, *Biochem. J.*, 1995, 34, p. 4186-4192.
- [23] Prusiner S.B., Molecular biology of prion diseases, *Science*, 1991, 252, p. 1515-1522.
- [24] a) Laurent M., Les maladies à prions : l'hypothèse de la « protéine seule » et ses conséquences dynamiques, *Médecine/Sciences*, 1996, 12, p. 774-785. b) Lehmann S., Le rôle de la protéine du prion dans les encéphalopathies spongiformes transmissibles humaines, *Médecine/Sciences*, 1996, 12, p. 949-958.
- [25] Liautard J., Les prions sont-ils des protéines chaperonnes mal repliées?, *Médecine/Sciences*, 1992, 8, p. 55-57.
- [26] Huang Z., Prusiner S., Cohen F., Scrapie prions : a three dimensional model of an infectious fragment, *Folding and Design*, 1995, 1, p. 13-19.
- [27] Caughey B., Chesebro B., Prion protein and the transmissible spongiform encephalopathies, *Trends in Cell Biology*, 1997, 7, p. 56-62.
- [28] Brown D.R., Schmidt B., Kretschmar H., Role of microglia and host prion protein in neurotoxicity of a prion protein fragment, *Nature*, 1996, 380, p. 345-347.
- [29] Yon Kahn J., Le prion. *Regard sur la biochimie*, 1996, 3, p. 12-18.
- [30] Lasmézas C., Deslys J.P., Robain O., Jaegly A., Beringue V., Peyrin J.M., Fournier J.G., Hauw J.J., Rossier J., Dormont D., Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein, *Science*, 1997, 275, p. 402-405.

- [31] Collee G., Bradley R., BSE : a decade on, a) Part 1 : *Lancet*, **1997**, 349, p. 636-641 et b) Part 2 : *Lancet*, **1997**, 349, p. 715-721.
- [32] Beauvais P., Billette de Villemeur T., *Maladie de Creutzfeldt-Jakob et autres maladies à prions*, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, **1996**.
- [33] Picot A., Complément sur les risques biologiques : les prions, p. 421-422, dans Picot A., Grenouillet P., La sécurité en laboratoire de chimie et de biochimie, Tec-Doc Lavoisier, **1992**, Paris.
- [34] a) Matrat M., Abadia G., Les maladies à prions animales et humaines, *Documents pour le médecin du travail*, **1996**, 65, p. 41-45, INRS, Paris. b) Circulaire DGS/DH n° 100 du 11 décembre 1995 relative aux précautions à observer en milieu chirurgical et anatomopathologique face aux risques de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, *Documents pour le médecin du travail*, **1996**, 65, p. 65-71, INRS, Paris.
- [35] a) Rapport d'information déposé par la mission d'information commune de l'Assemblée nationale sur l'ensemble des problèmes posés par le développement de l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine, (dossier n° 3291 déposé, le 15 janvier **1997**), président : Évelyne Guilhem, rapporteur : Jean-François Mattei). b) *Un guide ESB : information à destination des consommateurs*, 3e édition, CE, DG24, Bruxelles, 1997. c) La lutte de l'UE pour mettre un terme à la maladie de la vache folle, *EuR-OP News*, Luxembourg, **1997**, 3, p. 4.
- [36] De Recondo A.M., Les prions : doutes et réalités, *Lettre des Sciences de la vie du CNRS*, supplément au n° 62, juin **1996**.
- [37] Tagliani R.A., Mc Arthur R.A., Canciani B., Giacone G., Porro M., Bugiani M., Lievens P.M.J., Bugiani O., Peri E., Dall'Ara P., Rocchi M., Poli G., Forloni G., Bandiera T., Varasi M., Suarato A., Cassuti P., Cervini M.A., Lansen J., Salmons M., Post C., Effectiveness of anthracycline against experimental prion in syrian hamsters, *Science*, may **1997**, 276, p 1119-1122.
- [38] Masmoudik, Rosa A., Canapies., Andresak M., Pseudo Creutzfeldt-Jakob par utilisation au long cours de lithium, *Thérapie*, **1996**, 51, p. 685-690.
- [39] Baudot Ph., Boisset M., Pezerat H., Picot A., La toxicochimie inorganique, *L'Actualité Chimique*, juin-juillet **1996**, p. 53-61.
- [40] Kriegstein A., Armitage B., Kim P., Heroin inhalation and progressive spongiform leukoencephalopathy, *The New England Journal of Medicine*, 20 février **1997**, p. 589-590.
- [41] Hirsch M., Duneton PH., Baralon PH., Noiville F., *L'affolante histoire de la vache folle*, Ballad, Paris, **1996**.
- [42] Normand J.M., De l'écologie à l'exigence consumériste, *Le Monde*, 7-8 avril **1996**.
- [43] Lagadec P., Face aux crises de demain, le vide, *Le Monde*, 26 mars **1997**.
- [44] Korth C., Stierli B., Streit P., Moser M., Schaller O., Fischer R., Schulz-Schaeffer W., Kretschmar H., Raeber A., Braun U., Ehrensperger F., Hornemann S., Glockshuber R., Riek R., Billeter M., Wüthrich K., Oesch B., Prion (PrP<sup>Sc</sup>)-specific epitope defined by a monoclonal antibody, *Nature*, **1997**, 390, p. 74-77.
- [45] Aguzzi A., Colinge J., Post-exposure prophylaxis after accidental prion inoculation, *Lancet*, **1997**, p. 1519-1520.
- [46] Samaia H., De Jesus Mari J., Vallada H., Moura R., Simpson A., Brentani R., A prion-linked psychiatric disorder, *Nature*, **1997**, 390, p. 241-244.
- [47] Roqueplo Ph., *Entre savoir et décision, l'expertise scientifique*, Sciences en questions, INRA édition, Paris, **1997**.

Le numéro 7 de décembre 1996 de *L'Actualité Chimique* « **Chimie de coordination aux frontières de la réactivité, des matériaux et de la biologie** » peut faire l'objet d'une commande au numéro.

Prix : membres de la SFC (n° de sociétaire : ..... ) ..... 50 F  
 non-membres de la SFC ..... 100 F

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse d'expédition : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Nombre d'exemplaires souhaités : .....

Ci - joint :

- bon de commande
- chèque postal
- chèque bancaire

Ce bulletin est à adresser, accompagné du règlement ou d'un bon de commande, à la Société Française de Chimie, 250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris.