

■■■■ **Thérapie génique et hémophilie A.** Le traitement habituel de l'hémophilie A ou B repose sur le traitement substitutif par administration du facteur anticoagulant déficient (facteur VIII ou IX) purifié ou recombinant. L'hémophilie A est une pathologie qui pourrait bénéficier d'approches de thérapie génique car l'index thérapeutique du facteur VIII est large, ce qui réduit le risque de surdosage. Par ailleurs, la production de facteur VIII n'est pas réglée par les saignements et pourrait être assurée par différents types cellulaires. Enfin, une production même modérée de ce facteur de coagulation peut être bénéfique dans la prévention des hémorragies. Une approche originale de thérapie génique, développée chez 6 patients ayant une hémophilie A sévère (taux du facteur VIII < 0,8 % de la normale), vient d'être rapportée [1]. Cette approche ne repose pas sur l'utilisation de vecteurs viraux, mais sur les fibroblastes dermiques qui ont été transfectés par électroporation par un plasmide contenant la séquence génique du facteur VIII. Après culture et clonage, 100 à 400 millions de fibroblastes ont été injectés par laparoscopie dans l'épiploon des patients. Ceux-ci ont été suivis 12 mois après l'implantation des cellules génétiquement modifiées. Aucune complication n'est apparue à long terme. Chez 4 patients, une élévation du taux sanguin du facteur VIII au-dessus du taux initial a été notée. Ceci était corrélé à une diminution significative des événements hémorragiques et de l'utilisation substitutive de facteur VIII recombinant. Enfin, aucun inhibiteur du facteur VIII n'a été détecté chez les patients. Dans un cas, un niveau élevé de facteur VIII a été noté 10 mois après l'implantation. Si cette approche apparaît prometteuse et évite les écueils de l'utilisation de cellules infectées par des adénovirus ou des rétrovirus, un certain nombre de questions sont soulevées par ce travail. Tout d'abord, la production de facteur VIII ne peut être que transi-

toire, nécessitant l'implantation répétée de clones de fibroblastes transfectés. Le devenir de ces cellules, multipliées *ex vivo*, est incertain. Enfin, le taux sanguin de facteur VIII observé chez les patients reste minime, ce qui, en l'absence d'essais randomisés, rend difficile l'interprétation des résultats, notamment la diminution de l'utilisation de facteur VIII substitutif.

[1. Roth DA, *et al. N Engl J Med* 2001 ; 344 : 1735-42.]

■■■■ **La CTP-synthétase : une cible pour le traitement de la maladie du sommeil ?** La maladie du sommeil, due à *Trypanosoma brucei gambiense* ou *rhodesiense* et transmise par la mouche tsétsé, touche environ 500 000 personnes en Afrique. Son invasion procède en deux étapes, le sang et la lymphe dans un premier temps, puis le système nerveux central. Les abords thérapeutiques sont limités par la toxicité des médicaments, mais aussi par leur incapacité de franchir la barrière hémato-encéphalique, et leur prix prohibitif. On savait que *T. brucei* ne peut synthétiser *de novo* les purines, mais possède la capacité de convertir l'IMP, l'AMP et le GMP. Un travail récent montre qu'il existe aussi un déficit de synthèse des pyrimidines, qui pourrait être utilisé dans une perspective thérapeutique [1]. On observe en effet dans les cultures de *T. brucei* un taux particulièrement faible des réserves en CTP comparées à celles des autres nucléotides [2]. Il s'agit d'un déficit de synthèse dû à une faible activité de la CTP-synthétase (qui transforme l'UTP en CTP), sans accélération de la dégradation. En outre, contrairement aux purines, le parasite est incapable de transformer en CTP les précurseurs, cytidine ou cytosine. Les auteurs ont alors envisagé de tester deux inhibiteurs de la CTP-synthétase, analogues de la glutamine déjà utilisés

dans la chimiothérapie de certains cancers : la 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) et l'acide  $\alpha$ -amino-3-chloro-4,5-dihydro-5-isoxazoleacétique (acivicine). En culture de la forme sanguine du *T. brucei*, on observe une réduction majeure des réserves de CTP et de la prolifération du parasite, qui dépend donc de la synthèse *de novo* de CTP. Chez des souris infectées, dont la maladie est comparable à celle de l'homme, un traitement par DON entrepris 4 jours après l'infection entraîne une diminution de la parasitémie qui devient indétectable pendant toute la durée du traitement, mais augmente à nouveau après son arrêt. Cependant, une difficulté réside dans le fait que les inhibiteurs de CTP-synthétase utilisés sont également des inhibiteurs de la synthèse *de novo* des purines, et donc de la prolifération cellulaire. Cet obstacle semblerait levé, au moins en culture, par l'ajout d'hypoxanthine qui permet la synthèse des bases puriques tout en respectant l'action sur la CTP-synthétase. Cela pourrait, *in vivo*, atténuer les effets secondaires. Il restera à déterminer si le DON, comme l'acivicine, peut traverser la barrière hémato-encéphalique, et si la rechute peut-être prévenue par un traitement prolongé.

[1. Hofer A, *et al. Proc Nat Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 6412-6.]

[2. Hofer A, *et al. J Biol Chem* 1998 ; 273 : 34098-104.]