

Les facteurs neurotrophiques : un mythe thérapeutique ?

Bernard ROGISTER

Centre de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, Service de Neurologie, Université de Liège, Belgique.

Adresse : B. Rogister
CNCM
Institut Léon Frédéricq
17 place DELCOUR
B-4020 LIEGE, BELGIQUE
Tél. 32 4 366 59 17
Fax 32 4 366 59 12
e-mail: Bernard.Rogister@ulg.ac.be

Nombre de pages: 25

Nombre de figures: 2

Nombre de tableaux: 3

Nombre de mots : 8932

Remerciements :

BR est Maître de Recherches du FNRS. Ses travaux sont soutenus par le FNRS, la Fondation Médicale Reine Elisabeth, le Fonds Charcot, la ligue Belge de la Sclérose en Plaques et une Action Concertée de la communauté française de Belgique.

Pendant plusieurs décades, les facteurs neurotrophiques (FNTs) ont été confinés au domaine des neurosciences et plus particulièrement de la neurobiologie du développement. L'idée que ces facteurs puissent être utiles dans des domaines comme la neuroprotection voire la « neuro-réparation » d'affections neurologiques diverses, aiguës ou chroniques, a été évoquée très tôt mais, pendant longtemps, aucun argument expérimental ne venait étayer cette hypothèse. Il y a une quinzaine d'années, les techniques de biologie moléculaire ont modifié de manière radicale cet état de choses et ce, par trois voies d'approche différentes sur les plans technique et conceptuel, mais avec au bout du compte, la même finalité : 1) la production de grandes quantités de facteur trophique recombinant par les techniques d'expression hétérologue a permis d'envisager leur utilisation thérapeutique à grande échelle; 2) la construction d'animaux transgéniques déficients pour l'un ou l'autre de ces facteurs a permis d'élaborer ou d'affiner diverses hypothèses étio- et physio-pathologiques concernant diverses maladies neurologiques, surtout neurodégénératives; 3) la meilleure connaissance des voies intracellulaires de signalisation de ces facteurs débouche sur de nouvelles conceptions pharmacologiques de recrutement de ces voies intra-neurales de signalisation, "court-circuitant" ainsi l'utilisation de ces facteurs dans diverses affections neurologiques.

Dans cette revue, nous décriront brièvement les facteurs neurotrophiques caractérisés jusqu'à présent. Nous rappellerons quels sont les concepts qui ont permis leur découverte voici maintenant bientôt septante ans par le regretté Viktor Hamburger, pionnier de la neuroembryologie et récemment décédé. Nous envisagerons ensuite les évolutions récentes des hypothèses physiopathologiques réalisées par l'étude des animaux transgéniques. Enfin, nous évoquerons les résultats des essais cliniques qui utilisent ces facteurs dans des affections neurologiques diverses.

1. Les Facteurs Neurotrophiques :

a. Historique

On doit les premières observations suggérant l'existence un support trophique pour les neurones à Waller qui en 1952 observe qu'après une lésion nerveuse, c'est la partie distale qui dégénère (Waller, 1952). En 1898, Foarsmann observe que les fibres nerveuses proximales par rapport à une lésion ont tendance à régénérer vers leur partie distale (Foarsmann, 1898). Ces observations ont ensuite été raffinées par Ramon Y Cajal qui démontre que ces fibres en régénération ont tendance à se diriger vers leur cible, malgré le

fait qu'elles en soient parfois séparées par de grandes distances (Ramon Y Cajal, 1892 et 1928). C'est à Viktor Hamburger que l'on doit cependant la théorie de la neurotrophicité : il décrit l'atrophie à la fois de la corne spinale antérieure et des ganglions spinaux lorsqu'il excise l'ébauche d'aile d'un embryon de poulet âgé de 72 heures (Hamburger, 1934). Il conclut qu'il existe au niveau des territoires destinés à être innervés une ou des substance(s) favorisant la survie neuronale. Buecker puis Levi-Montalcini répètent au début des années cinquante les expériences de Hamburger et essaient de substituer au tissu excisé un tissu moins complexe et plus homogène sur le plan histologique. Ils découvrent ainsi que certains sarcomes favorisent la survie et la croissance axonale de neurones des ganglions dorsaux ou des ganglions sympathiques (Levi-Montalcini, 1951). Levi-Montalcini, associée cette fois à Cohen, identifie ensuite cette substance neurotrophique comme étant une protéine ou une ribonucléoprotéine (Cohen et coll., 1954). En cherchant à détruire l'activité trophique, ils utilisent du venin de serpent, riche en nucléases variées dans l'hypothèse que cette activité trophique serait ribonucléique. D'une part, ils confirment dans cette expérience que l'activité trophique est de nature protéique et non pas ribonucléoprotéique, mais d'autre part, ils font une observation qui va leur permettre la purification de ce qu'ils appellent désormais le "Nerve Growth Factor ou NGF" : le venin de serpent est très riche en NGF. Dès lors, ils vont partir d'extraits de glandes sous-maxillaires de souris pour la purification du NGF (Cohen 1960). Bien plus, dès qu'un immun sérum dirigé contre le NGF a été disponible, on a observé une "immuno-sympathectomie" après injection de ce sérum à des embryons de poulet ou de souris.

b. Définitions

La définition de facteur neurotrophique comme étant une substance permettant la survie neuronale est bien trop imprécise. En effet, le glucose répond à ces critères et on ne peut évidemment le ranger dans cette catégorie. Les FNTs sont des peptides ou des protéines sécrétés, souvent par la cible, et qui agissent comme facteurs de croissance nécessaires au développement phénotypique (mais aussi à la maintenance chez l'individu adulte) de populations neuronales spécifiques. Ces protéines diffusibles libérées par la cible (neuronale ou non) agissent via un transport rétrograde ou de manière autocrine ou paracrine. Agir comme un facteur de croissance signifie dans ce cas favoriser à la fois la survie cellulaire, l'élongation neuritique et l'établissement d'une synapse avec la cible adéquate.

Les premières expériences rappelées ci dessus suggèrent que les neurones au cours du développement entrent en compétition les uns avec les autres car la quantité de NGF

libérée par la cible étant limitée (Grimes et coll., 1996; Yuen et coll., 1996). Les neurones qui ne reçoivent pas suffisamment de stimulus trophique disparaissent par apoptose, encore appelée mort cellulaire programmée (Thoenen et coll., 1987). Cette hypothèse a été en partie vérifiée expérimentalement (Von Bartheld et Johnson, 2001). Chez l'adulte, les FNTs sont impliqués dans la maintenance phénotypique neuronale mais également dans la régulation de nombreux autres aspects de la biologie tant neuronale que gliale.

Si les premiers facteurs trophiques ont été caractérisés en utilisant des techniques classiques de purification des protéines couplées à un dosage de la survie neuronale servant à monitoriser la purification, les progrès des techniques de biochimie et surtout de la biologie moléculaire ont permis d'e caractériser plusieurs FNTs depuis le NGF (Tableau 1). D'autres facteurs purifiés ou clonés dans des circonstances autres que la survie neuronale, se sont révélés par la suite, une fois utilisés dans des expériences de survie neuronale en culture, comme étant doué également d'une activité neurotrophique (le bFGF ou "Fibroblast Growth Factor" de type basique étant un exemple particulièrement illustratif de ce fait).

c. Les neurotrophines

Les neurotrophines, encore appelées super-famille du NGF, comprend outre le NGF, le brain-derived neurotrophic factor (BDNF), la neurotrophin-3 (NT-3), la neurotrophin-4/5 (NT-4/5) et la neurotrophin-6 (NT-6) (Ibáñez ,1998). Bien que les neurotrophines aient été caractérisées chez à peu près tous les vertébrés, on n'a jamais mis en évidence leurs homologues chez les invertébrés. Barde, qui a purifié le BDNF (Barde et coll., 1982), a même émis l'hypothèse selon laquelle les organismes de petite taille n'avaient pas besoin de neurotrophines pour assurer le développement et la maintenance de leur système nerveux (Bibel et Barde, 2000). L'absence de neurotrophines chez les invertébrés a été récemment confirmée par l'analyse des génomes de *C. elegans*, de la drosophile et de la limule (Jaaro et coll, 2001).

Si on reprend le décours historique des évènements, lorsqu'on a réalisé que le NGF n'exerçait pas d'activité trophique vis-à-vis de certains types neuronaux, on a immédiatement recherché d'autres facteurs neurotrophiques. Le premier qui a été ainsi caractérisé est le BDNF qui, à l'inverse du NGF, est trophique pour les motoneurons par exemple (Sendtner et coll., 1992). L'analyse des similitudes structurales entre les deux facteurs (la séquence en acides aminés du NGF est identique à plus de 50% de celle du BDNF) a permis de rechercher d'autres gènes ou protéines qui avaient ces mêmes similitudes. Ainsi, pas moins de 5 laboratoires différents ont décrit en même temps le troisième membre de la famille des

neurotrophines, la NT-3 (Ernfors et coll., 1990; Hohn et coll., 1990; Kaisho et coll., 1990; Maisonpierre et coll., 1990; Rosenthal et coll., 1990). L'analyse phylogénique de ces trois facteurs neurotrophiques a ensuite permis à certains auteurs de caractériser un facteur neurotrophique (NT-4) présent chez la grenouille africaine (*Xenopus Laevis*) et chez la vipère (*Viper Labetina*) (Hallböök et coll., 1991). NT-5, un facteur exprimé surtout dans le placenta humain est en fait très voisin de NT-4 et étant donné que ces deux facteurs ont également des propriétés fonctionnelles très proches, il a été décidé de les regrouper sous le terme NT-4/5 (Berkemeier et coll., 1991). Enfin, le dernier membre de cette famille est la NT-6 identifiée chez le xiphophore (*Xiphophorus maculatus*), un petit poisson d'aquarium (Gotz et coll., 1994) Ce facteur trophique pour les neurones sensoriels et sympathiques n'est pas sécrété dans le milieu mais exprimé en surface cellulaire et, fait unique dans la famille des neurotrophines, requiert l'addition d'héparine pour être actif.

d. La famille des Neurokines

L'observation que des extraits de la chambre antérieure de l'œil sont capables d'interrompre le déroulement d'un programme de mort neuronale (apoptose) dans des neurones de ganglion ciliaire parasymphatique (et donc cholinergiques) chez des embryons de poulet (Adler et coll., 1979) a conduit à la purification du Ciliary Neurotrophic Factor ou CNTF (Barbin et coll., 1984; Manthorpe et coll., 1986). Le clonage a permis l'analyse de la séquence en acides aminés de ce facteur et on s'est rendu compte qu'il était dépourvu d'un peptide signal, nécessaire à la sécrétion (Lin et coll., 1989). Ceci suggère que ce facteur serait cytosolique et que sa libération dans le milieu extracellulaire ferait appel à des mécanismes non encore élucidés.

C'est le système de récepteur au CNTF qui le rapproche de nombreuses cytokines d'où le nom de neurokines. En effet, le CNTF peut interagir avec une protéine membranaire appelée CNTF α R qui n'est exprimée qu'au niveau du système nerveux central (Ip et coll., 1993). Cette protéine est liée à la membrane par un lien glycosylphosphatidylinositol (GPI), ce qui permet en fait une liaison du CNTF par des cellules qui n'expriment pas CNTF α R : ce dernier peut être sécrété par une cellule et adsorbé sur une autre cellule qui porte sur sa membrane des GPI libres. Le CNTF α R présente le CNTF à son "vrai" récepteur capable de transduire un signal à l'intérieur de la cellule. Il s'agit d'un hétérodimère LIFR β /gp130, récepteur utilisé par de nombreuses cytokines telles l'IL-6, le LIF ou encore l'oncostatine M ou la cardiotrophine-1. D'ailleurs, l'analyse structurale du CNTF le rapproche de ces mêmes cytokines ainsi que du facteur de croissance des granulocytes, le GM-CSF (Basan, 1991;

Baumann et coll., 1993, Davis et coll., 1993; Stahl et coll., 1993). Le LIF (Leukemia Inhibiting Factor) est par ailleurs doué d'activité neurotrophique vis-à-vis de plusieurs types neuronaux dont notamment les motoneurones (Hall et Rao, 1992; Martinou et coll., 1992; Ludlam et Kessler, 1993).

e. La famille GDNF

Cette famille est la dernière à avoir été individualisée. Le Glia-derived Neurotrophic Factor (GDNF) est libéré par les cellules gliales et favorise la survie des neurones dopaminergiques notamment (Lin et coll., 1993; Lin et coll., 1994). Structurellement, le GDNF fait partie de la superfamille des TGF- β (Transforming Growth Factor β). A ce propos le TGF- β stimule la survie des motoneurones en culture (Martinou et coll., 1990), sans doute de manière indirecte (Flanders et coll., 1991) et favorise la neurogenèse de l'hippocampe (Ishihara et coll., 1994). Par ailleurs, il a été démontré que le TGF- β constitue un signal neuro-schwannien stimulant les réactions de ces cellules après lésion du nerf périphérique (Rogister et coll., 1993). Pour en revenir au GDNF, celui-ci, une fois purifié, fut injecté par voie intra-ventriculaire chez le rat adulte, et on a démontré qu'il protégeait les neurones dopaminergiques à la fois contre une atteinte toxique constituée par injection de MPTP (Tomac et coll., 1995) et contre les effets de l'axotomie (Beck et coll., 1995). Cependant, l'effet neuroprotecteur du GDNF ne se limite pas aux seuls neurones dopaminergiques puisqu'il maintient la survie des motoneurones à une concentration très faible (EC_{50} de 10 fM) (Henderson et coll., 1994), il favorise leur maturation cholinergique (Zurn et coll., 1994) et il les protège de la mort cellulaire induite par axotomie (Oppenheim et coll., 1995; Yan et coll., 1995; Li et coll., 1995). De même, le GDNF est capable de favoriser la survie de certaines populations neuronales des ganglions périphériques (Trupp et coll., 1995; Buj-Bello et coll., 1995).

La neurturine (NRTN) fut le second facteur de cette famille à être caractérisé sur base d'une activité neurotrophique vis-à-vis des neurones sympathiques (Kotzbauer et coll., 1996). Ensuite, sur base de l'homologie de séquence entre le GDNF et la NRTN, on a pu par les techniques de biologie moléculaire individualiser la persépine (PSPN) (Milbrandt, J. et coll., 1998) et l'artémine (ARTN) (Baloh et coll., 1998). Tous ces facteurs ont sept résidus cystéines conservés, ce qui leur confère une structure proche expliquant leur lien de parenté. Ces facteurs neurotrophiques sont importants au cours du développement dans et hors du système nerveux. D'une part, ART par exemple est un facteur neurotrophique vis-à-vis de neurones périphériques (Anders et coll., 2001). D'autre part, les souris transgéniques dont le

gène du GDNF a été inactivé meurent à la naissance suite à deux anomalies : d'une part elles présentent un dolicho-méga colon tel qu'on peut l'observer chez les enfants atteints de la maladie de Hirshprung et qui est dû dans ce cas à une absence totale de neurones entériques mais en plus ces souris présentent une agénésie rénale (revue : Baloh et coll., 2000). Ceci souligne l'implication de ces facteurs en dehors du système nerveux.

f. Les facteurs neurotrophiques non-neuronaux.

Les Fibroblast Growth factors (FGFs) ont été isolés au départ à partir d'homogénats de cerveaux sur base de leur activité mitogène vis-à-vis des fibroblastes en culture (Gospodarowicz, 1974). On s'est rapidement rendu compte en effet que l'activité mitogène était due non pas à un mais à au moins deux facteurs assez proches qui pouvaient être séparés sur base de leur point isoélectrique différent (Lemmon et coll., 1982; Thomas et coll., 1984). Un FGF a un point isoélectrique acide et a été appelé aFGF tandis que le bFGF a un point isoélectrique basique. Depuis, plusieurs autres FGFs ont été caractérisés et actuellement, on dénombre 15 formes différentes (Boilly et coll., 2000). Outre leur homologie de séquence et de structure, tous ces facteurs ont en commun une affinité élevée pour l'héparine et les héparans sulfates protéoglycans. Ils sont dès lors très largement distribués au niveau des surfaces cellulaires et des membranes basales. Non seulement l'héparine ralentit leur dégradation (Gospodarowicz et coll., 1986a) mais elle amplifie leur activité biologique en facilitant l'interaction avec leurs récepteurs (Gospodarowicz et coll., 1986b; Lefebvre et coll., 1991). Ces observations sont à la base de leur désignation sous le terme générique "Heparin-binding Growth factors" (Burgess et coll., 1989). Au niveau du système nerveux, aFGF et bFGF sont mitogènes pour les astrocytes (Perraud et coll., 1988), mais aussi pour les cellules souches nerveuses en culture (Ciccolini et Svendsen, 1998). Le bFGF stimule la survie et la croissance neuritique des neurones hippocampiques fœtaux en culture ainsi que des neurones corticaux (Walicke et coll., 1986; Morrison et coll., 1986). Au niveau du système nerveux périphérique, le bFGF stimule la survie des neurones des ganglions des racines dorsales (Unsicker et coll., 1987) des neurones du ganglion ciliaire parasympathique (Dreyer et coll., 1989), des neurones sympathiques (Eckenstein et coll., 1990) et des motoneurones (Arakawa et coll., 1990). A la fois le aFGF et le bFGF sont également neurotrophiques lorsqu'ils sont administrés in vivo : ils favorisent la survie des neurones rétiniens après section du nerf optique (Sievers et coll., 1987), dans un modèle de rétinopathie dystrophique héréditaire (Faktorovitch et coll., 1990) et en cas d'ischémie (Unoki

et coll., 1994). Le bFGF empêche la mort des neurones cholinergiques après la section du faisceau entre le fimbria et le fornix (Anderson et coll., 1988).

On ne peut cependant encore être certain à l'heure actuelle qu'une activité neurotrophique ne fasse partie des rôles physiologiques des FGFs. Le bFGF est exprimé au niveau de la zone ventriculaire au cours du développement (Hagihara et coll., 2000). Il est donc probable qu'il participe à la stimulation de la prolifération des cellules souches en même temps que d'autres facteurs (Calaora et coll., 2001). Le bFGF est aussi exprimé en temps normal dans le système nerveux central adulte (Burgess et coll., 1989) et une lésion à ce niveau stimule encore son expression (Gomez-Pinilla et coll., 1994). En revanche, il est peu exprimé dans le système nerveux périphérique et une lésion à ce niveau abolissent toute expression (Eckenstein et coll., 1991).

2. Les récepteurs

Nous ne considérerons ici que des mécanismes généraux car, d'une part une description précise des récepteurs aux FNTs et des voies de signalisation intracellulaire qu'ils déclenchent sort du contexte de la présente revue et que d'autre part, ce champ est actuellement en évolution constante.

a. Les récepteurs à haute affinité

Tous les facteurs neurotrophiques évoqués ci-dessous interagissent avec une haute affinité avec des protéines trans-membranaires réceptrices. Ainsi, les neurotrophines se lient à une famille de récepteurs appelés *trk* pour tropomyosine-related kinase car ces protéines ont d'abord été isolé comme proto-oncogènes de tumeur colique (Martin-Zanca et coll., 1986). Les membres de la famille du GDNF, bien qu'ils fassent partie de la super-famille du TGF- β , n'interagissent pas avec un récepteur de type sérine-thréonine kinase comme on pourrait s'y attendre mais bien avec un autre récepteur de type tyrosine-kinase, lui aussi décrit initialement comme un proto-oncogène, c-ret (Jing et coll., 1996 ; Treanor et coll., 1996 ; Trupp et coll., 1996). Les neurokines interagissent avec un couple de récepteurs hétérodimériques LIF β /gp130 (voir ci-dessus) recrutant des tyrosine kinase cytoplasmiques et le FGF se lie avec le récepteur FGFR, une tyrosine kinase qui existe sous quatre formes distinctes (Ornitz, 2000) . Alors que c-ret n'existe que sous une seule forme ainsi que le dimère LIF β /gp130, les récepteurs *trk* existent sous trois formes A,B et C. Ils ont tous une affinité préférentielle pour une des neurotrophines (figure 1).

En tant que tyrosine kinases, ces récepteurs partagent plusieurs caractéristiques : 1) ce sont des protéines trans-membranaires qui lient leur ligand au niveau de leur domaine extracellulaire et qui possèdent au niveau de leur région intracellulaire une activité de type tyrosine kinase ; 2) le ligand provoque une dimérisation du récepteur et c'est cette dimérisation qui est responsable de l'activation enzymatique de la kinase ; 3) la kinase activée est responsable d'une transphosphorylation, c'est-à-dire de l'adjonction de groupes phosphates sur certains résidus tyrosine présents sur leur partenaire respectif de dimérisation. Cette adjonction de groupements phosphates au niveau intracellulaire est responsable à son tour d'une cascade de signalisation intracellulaire (voir ci-dessous).

b. Les co-récepteurs ou récepteurs à basse affinité.

En dehors du FGF, ces FNTs ont la particularité de se lier également de manière spécifique à des récepteurs de basse affinité. Alors que les récepteurs à haute affinité lient leur ligand respectif avec une constante de dissociation relativement faible ($K_d 10^{-11}$ M), les récepteurs à basse affinité ont un K_d voisin de 10^{-9} M, ce qui suggère pour ces derniers une affinité 100 fois plus faible (Meakin et Shooter, 1992). Ainsi on a décrit pour les neurotrophines le p75LNGFR (low affinity NGF receptor ayant un poids moléculaire de 75 kDa) (Meakin et Shooter, 1992), pour les neurokines le CNTF α R (voir ci-dessus) et pour les membres de la famille GDNF, les GFR α 1 à 4 (Saarma, 2000). Si le p75LNGFR est aussi une protéine trans-membranaire, les GFR α et le CNTF α R sont des protéines liées à la membrane par un lien glycosylphosphatidylinositol (GPI). Enfin, le récepteur p75LNGFR est capable de provoquer des réponses intracellulaires distinctes des récepteurs *trk*, tandis que les récepteurs GFR α s et CNTF α R ne font que « présenter » leur ligand à leurs récepteurs à haute affinité respectif. p75LNGFR fait en effet partie d'une famille de récepteurs qui comprend entre autres les deux récepteurs au TNF (Tumor Necrosis Factor) , FAS, CD40 et une quinzaine d'autres membres (Chan et coll., 2000). Il est capable d'interagir avec diverses protéines cytoplasmiques, tout comme les récepteurs au TNF, et déclenche à l'intérieur de la cellule diverses réponses comme la croissance neuritique, l'arrêt du cycle cellulaire mais aussi, dans certains cas, la mort cellulaire par apoptose (Bibbel et Barde, 2000). Ainsi, dans la rétine en développement, on note, en présence de NGF, une mort neuronale lorsque p75LNGFR est seul exprimé et une survie neuronale dès que *trkA*, qui a une affinité plus élevée pour le NGF, est exprimé (Barrett, 2000).

c. Les seconds messagers

Les tyrosines phosphorylées au niveau des récepteurs, servent de sites d'interaction protéique avec de nombreuses protéines intracellulaires servant de seconds messagers (Greene et coll., 1995 ; Kaplan et Miller, 1997) (Figure 2). Le nombre élevé d'interactions connues à l'heure actuelle rend la situation complexe à appréhender dans son ensemble. Sans entrer dans les détails, plusieurs voies sont stimulées de cette façon : 1) activation de la voie Ras, Raf et des MAP-kinases aboutissant à la phosphorylation et donc à l'activation de divers facteurs de transcription intranucléaires comme Fos et AP1 ; 2) activation de la phosphoinositide (PI) 3-kinase et à la production de 3-phosphoinositols activant la libération intra-cytoplasmique de calcium qui à son tour active certaines kinases et qui elles-mêmes activent par phosphorylation divers facteurs de transcription ; 3) activation de la phospholipase C- γ et apparition de diacylglycérol qui active la protéine kinase C. Enfin, d'autres facteurs de transcription, les STATs qui sont séquestrés dans le cytoplasme neuronal lorsqu'ils ne sont pas phosphorylés, peuvent être activés par des kinases intracellulaires (elles-mêmes activées par les récepteurs aux FNTs) , et ensuite transloqués au niveau intranucléaire. Tous ces facteurs de transcription modifient le niveau d'expression de nombreux gènes permettant la survie neuronale et inhibant les voies intracellulaires de déclenchement de la mort cellulaire programmée ou apoptose (Oriike et coll., 2001).

3. Le rôle physiologique des facteurs neurotrophiques : les enseignements des souris transgéniques.

Une fois qu'un facteur neurotrophique a été purifié, séquencé et cloné et que son récepteur ainsi que les seconds messagers ont été caractérisés, se pose la question de sa relevance sur le plan physiologique tant au cours du développement que lors de la maintenance du système nerveux. Les progrès récents de la biologie moléculaire permettent de créer des mutations artificielles et contrôlées et donc de stimuler la sur-expression (globale ou ciblée dans certains tissus) ou à l'inverse l'inactivation (ici aussi globale ou ciblée) de certains gènes. On parle alors en général de souris transgéniques et, uniquement en cas d'inactivation génique, de souris knock-out (KO). Les premiers résultats de l'analyse des phénotypes des souris KO ont été souvent décevants en ce sens que les anomalies observées étaient à tout le moins discrètes pour ne pas dire absentes (Klein, 1994). Deux explications ont été avancées pour expliquer cet état de choses : la redondance biologique (plusieurs gènes codent pour des protéines ayant des fonctions cruciales) et le développement de mécanismes de compensation. Un autre problème avec cette méthodologie est lié au fait que lorsqu'un

gène ou une protéine sont absents, on observe éventuellement des modifications du développement qui vont avoir d'énormes répercussions par la suite et qui masqueront éventuellement d'autres effets qui doivent apparaître à un âge plus avancé. Pour prendre un exemple extrême, certaines inactivations géniques s'accompagnent de létalité intra-utérine, masquant d'éventuelles autres répercussions plus discrètes de cette mutation à l'âge adulte. C'est pourquoi, plus récemment on a développé des animaux transgéniques conditionnels : on peut à l'heure actuelle obtenir chez ces animaux une inactivation ou une sur-expression génique modulables à la fois dans le temps et dans certains tissus.

Le tableau II résume les données sur les animaux KO pour les neurotrophines et leurs récepteurs (Davies, 1994 ; Klein, 1994 ; Snider, 1994). L'analyse de ce tableau nous permet de tirer deux conclusions générales : 1) on observe des phénotypes globalement semblables entre les animaux KO pour les récepteurs et ceux pour leur ligand respectif ; 2) les phénotypes observés sont en accord avec les estimations attendues en ce qui concerne le système nerveux périphérique (on observe par exemple une disparition des neurones sympathiques et sensitifs dans les souris KO pour le NGF et pour son récepteur *trkA*). Par ailleurs, on note un certain nombre de surprises. Une de celles-ci est constituée par la discordance qui existe entre les souris KO pour le BDNF et pour son récepteur *trkB* (Jones et coll., 1994 ; Klein et coll., 1993 ; Ernfors et coll., 1994). La souris KO pour *trkB* est caractérisée par une perte importante de neurones au niveau du noyau moteur du nerf facial et au niveau de la moelle épinière, tandis que la souris KO pour le BDNF est indemne à ces niveaux. Cette observation suggère qu'un autre ligand stimule la survie de ces neurones en cas d'absence du BDNF. En cas d'absence de *trkB*, il n'y a pas en revanche de compensation par un autre récepteur.

4. Bases expérimentales du traitement des maladies neurologiques par des facteurs neurotrophiques.

Le tableau III reprends une liste de maladies neurologiques pour lesquelles une thérapie recourant à l'utilisation de FNTs pourrait être envisagée. On se rend compte que de nombreux aspects de la pathologie neurologique incluant des déficits neuro-sensoriels et des maladies psychiatriques sont concernées. Les bases expérimentales qui sous-tendent cette approche thérapeutique sont : 1) les FNTs stimulent la survie neuronale au cours du développement ; 2) les FNTs préviennent la mort neuronale induite par l'axotomie ; 3) les FNTs préviennent dans une certaine mesure la mort neuronale induite par diverses toxines

(MPTP, 6-OHDopa, excitotoxines, radicaux libres,...) ; 4) les FNTs améliorent les déficits observés chez les modèles animaux mimant une pathologie neurologique.

Cependant, à priori il faut se montrer très prudent vis-à-vis de ces perspectives thérapeutiques étant donné tout d'abord que la plupart de ces résultats expérimentaux ont été obtenus à l'aide de neurones embryonnaires et on peut penser que les neurones adultes ne répondent pas de la même façon, soit quantitativement, soit qualitativement, à une stimulation par des FNTs. Ceci a notamment été démontré au niveau des neurones de l'oreille interne (Staecker et coll., 1996). La plupart de ces expériences in vitro ou même in vivo sont réalisées en quelques jours et cette situation est évidemment radicalement différente si on considère que le traitement d'affections neurodégénératives risque de se prolonger pendant plusieurs années. Par ailleurs, tant que nous ignorons la séquence physiopathologique précise conduisant à ces affections neurodégénératives, nous sommes incapables de prévoir si les FNTs risquent d'interférer avec certaines étapes de cette cascade physiopathologique.

5. Les essais thérapeutiques à l'aide des Facteurs Neurotrophiques : résultats et chausse-trappes.

Étant donné que les premiers effets biologiques des FNTs furent décrits au niveau du système nerveux périphérique, il était évident que les premiers essais thérapeutiques se devaient d'être tentés dans les polyneuropathies et plus particulièrement dans la polyneuropathie diabétique caractérisée par la dégénérescence des fibres non myélinisées de diamètre élevé et faible conduisant la sensibilité thermo-algique et des fibres myélinisées larges conduisant la sensibilité tactile et proprioceptive. Par ailleurs, différentes études de modèles de neuropathie diabétique ont démontré qu'une diminution de la quantité de NGF disponible au niveau de la cible et de son transport rétrograde participe à la pathogénie de l'affection (Apfel et coll., 1998). Une étude de phase II dans laquelle on réalise des injections sous-cutanées de NGF a démontré des résultats encourageants (Larkin, 1998). Ceux-ci sont cependant tempérés par l'apparition de réactions hyper algiques aux endroits d'injection. Ces réactions sont secondaires à une dégranulation mastocytaire qui peut être induite par le NGF (Mazurek et coll., 1996) et à une stimulation directe des fibres C nociceptives afférentes (Lewin et coll., 1993). Toujours est-il qu'une étude en phase III regroupant 1500 patients est actuellement en cours.

Plusieurs FNTs stimulent la survie des motoneurones. Cela a été démontré pour le BDNF, la NT-3, le CNTF, le GDNF et plusieurs membres de la famille du FGF. Jusqu'à présent cependant, les divers essais thérapeutiques tentés notamment dans la sclérose latérale

amyotrophique sont décevants. Les facteurs semblent peu actifs chez les malades et ne sont pas dénués d'effets secondaires parfois très invalidants. Ainsi, le CNTF peut activer certains récepteurs à différentes cytokines (voir ci-dessus). Les études de phase I et de phase II à l'aide de CNTF ont d'abord révélé l'incidence accrue chez les patients traités d'herpes labial (Groupe ACTASAPI-IS, 1993). Une étude en phase III a dû être interrompue à cause de l'apparition de fièvre, de tremblements, de sudations profuses et de perte de poids. L'ensemble de ces symptômes a d'ailleurs été regroupé sous le terme de syndrome des cytokines (Jeyarajah et coll., 1993). Par ailleurs, l'absence d'effets thérapeutiques dans cette indication est à mettre en relation avec le problème de la délivrance du FNT. Ces facteurs ont en effet une durée de vie assez réduite en injection sous-cutanée ou systémique. C'est pourquoi actuellement, divers modes de délivrance de ces facteurs faisant appel à des vecteurs viraux ont mis au point avec une efficacité certaine notamment dans des modèles animaux de sclérose latérale amyotrophique (Haase et coll., 1997).

Les maladies neurodégénératives qui ont fait l'objet d'essais thérapeutiques à l'aide de FNTs sont la maladie d'Alzheimer caractérisée par la perte de neurones cholinergiques et par la maladie de Parkinson, dans laquelle on observe une perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire. Encore une fois, on se heurte au problème ici de la délivrance puisque dans le système nerveux central, on doit tenir compte de la barrière hémato-encéphalique. On a rapporté de manière anecdotique quelques résultats équivoques d'infusion de NGF dans le cerveau de patients présentant une démence sévère de type Alzheimer (Kernie et Parada, 2000). De telles approches ont également été tentées dans la maladie de Parkinson avec l'avantage ici que la cible de l'injection est plus clairement définie et localisée que dans la maladie d'Alzheimer (Olson et coll., 1994). Dans ce cas également, les résultats ont été mitigés.

6. Conclusions

Comme on le voit les différents essais thérapeutiques de maladies neurologiques à l'aide de FNTs se sont montrés relativement décevants jusqu'à présent. Même les effets les plus prometteurs du NGF dans le cadre de la neuropathie diabétique sont tempérés par les effets secondaires associés. Les espoirs d'obtenir à la fois une bio-disponibilité plus grande des FNTs et une diminution importante des effets secondaires reposent actuellement sur deux approches. D'une part, sur base des études structurales des FNTs, il n'est pas interdit de penser que l'on puisse utiliser non pas un FNT recombinant entier mais peut-être un fragment de FNT. Celui-ci aurait d'une part une voie d'assimilation plus aisée que l'injection, et donc

serait éventuellement capable de traverser la barrière hémato-encéphalique et aurait d'autre part une action très ciblée vis-à-vis d'un sous-type de récepteur, de manière à diminuer autant que faire se peut les effets secondaires. Dans le même ordre d'idée, on peut également imaginer la synthèse d'agoniste synthétique non peptidique. L'autre approche consisterait à connaître avec encore plus de précisions les voies de signalisation intracellulaire recrutées par les FNTs, de manière à éventuellement les moduler pharmacologiquement. Ceci reviendrait donc à se passer d'un ligand, naturel ou artificiel, et de l'activation d'un récepteur cellulaire. On a ainsi démontré récemment que des composés capables de moduler certaines voies de signalisation intracellulaire étaient capables d'influencer favorablement la récupération fonctionnelle et neuroanatomique après une lésion d'un nerf périphérique chez l'animal (Snyder et coll., 1998). Plus encore que le recours à d'éventuels agonistes synthétiques, nous pensons que c'est à ce niveau que réside le futur de l'utilisation thérapeutique des FNTs.

Références :

- Adler, R., Landa, K.B., Manthorpe, M. and Varon, S. (1979) Cholinergic neurotrophic factors: intraocular distribution of soluble trophic activity for ciliary neurons. *Science*, **204**, 1434-1436.
- Anders, R., Forgie, A., Wyatt, S., Qi, C., de Sauvage, F.J. and Davies A.M. (2001) Multiple effects of artemin on sympathetic neuron generation, survival and growth. *Development*, **128**, 3685-3695.
- Anderson, K.J., Dam, D., Lee, S. Ad Cotman, C. (1988) Basic fibroblast growth factor prevents death of lesioned cholinergic neurons in vivo. *Nature*, **332**, 360-361.
- Apfel, S.C., Kessler, J.A., Adornato, B.T., Litchy, W.J., Sanders, C. Et Rask, C.A. (1998) Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy: NGF study group. *Neurology*, **51**, 695-702.
- Arakawa, Y., Sendtner, M. Ad Thoenen, H. (1990) Survival effect of ciliary neurotrophic factor (CNTF) on chick embryonic motoneurons in culture: comparison with other neurotrophic factors and cytokines. *J.Neurosci.*, **10**, 3507-3515.
- Baloh RH, Tansey MG, Lampe PA, Fahrner TJ, Enomoto H, Simburger KS, Leitner ML, Araki T, Johnson EM Jr, Milbrandt J. (1998) Artemin, a novel member of the GDNF ligand family, supports peripheral and central neurons and signals through the GFRalpha3-RET receptor complex. *Neuron*, **21**, 1291-1302.
- Baloh, R.H., Enomoto, H., Johnson, E.M.Jr. and Milbrandt, J. (2000) The GDNF family ligands and receptors – implications for neural development. *Curr.Opin.Neurobiol.*, **10**, 103-110.
- Barbin, G., Manthorpe, M. and Varon, S. (1984) Purification of the chick eye ciliary neurotrophic factor. *J.Neurochem.*, **43**, 1468-1478.
- Barde, Y.A., Edgar, D. Ad Thoenen, H.(1982) Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.*, **1**, 549-553.
- Barrett, G.L. (2000) The p75 neurotrophin receptor and neuronal apoptosis. *Progr.Neurobiol.*, **61**, 205-229.
- Baumann, H., Ziegler, S.F., Mosley, B., Morella, K.K., Pajovic, S. and Gearing, D., (1993) Reconstitution of the response to leukemia inhibitory factor, oncostatin M, and ciliary neurotrophic factor in hepatoma cells. *J.Biol.Chem.*, **268**, 8414-8417.
- Bazan, J.F. (1991) Neuropoietic cytokines in the hematopoietic field. *Neuron*, **7**, 197-208.
- Beck, K.D., Valverde, J., Alexi, T., Poulsen, K., Moffat, B., Vandlen, R.A. and Hefti, F. (1995) Mesencephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature*, **373**, 339-341.
- Berkemeier, L.R., Winslow, J.W., Kaplan, D.R., Nikoliks, K., Goeddel, D.V. and Rosenthal, A. (1991) Neurotrophin-5: a novel neurotrophic factor that activates *trkA* and *trkB*. *Neuron*, **7**, 857-866.
- Bibel, M. and Barde, Y.A. (2000) Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev.*, **14**, 2919-2937.
- Boilly, B., Vercoutter-Edouard, A.S., Hondrmarck, H., Nurcombe, V. and Le Bourle, A.V. (2000) FGF signalling for cell proliferation and migration through different pathways. *Cytokine Growth Factor Rev.*, **11**, 295-302.
- Buj-Bello, A., Buchman, V.L., Horton, A., Rosenthal, A., Davies, A.M. (1995) GDNF is an age-specific survival factor for sensory and autonomic neurons. *Neuron*, **15**, 821-828.
- Burgess, W.H. and Maciag, T. (1989) The heparin-binding (fibroblast) growth factor family. *Annual Review Biochemistry*, **8**, 575-606.
- Calaora, V., Rogister, B., Bismuth, K., Murray, K., Brandt, H., Leprince, P., Marchionni, M. and Dubois-Dalcq, M. (2001) Neuregulin signaling regulates neural precursor growth and the generation of oligodendrocytes in vitro. *J.Neurosci.*, **21**, 4740-4751.

- Chan, K.F., Siegel, M.R. and Leonardo, J.M. (2000) Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. *Immunity*, **13**, 419-422.
- Ciccolini, F. and Svendsen, C.N. (1998) Fibroblast growth factor 2 (FGF2) promotes acquisition of epidermal growth factor (EGF) responsiveness in mouse striatal precursor cells: identification of neural precursors responding to both EGF and FGF-2. *J. Neurosci.*, **18**, 7869-7880.
- Cohen, S., Levi-Montalcini R. and Hamburger V. (1954) A nerve growth stimulating factor isolated from sarcomas 337 and 180. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **40**, 1014-1018.
- Cohen S. (1960) Purification of a nerve growth promoting protein from mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **46**, 302-311.
- Davis, S., Aldrich, T., Stahl, N., Pan, L., Taga, T., Kishimoto, T., Ip, N.Y. and Yancopoulos, G.D. (1993) LIFR β and gp130 as heterodimerizing signal transducers of the tripartite CNTF receptor. *Science*, **260**, 1805-1808.
- Davies, A.M. (1994) Neurotrophic factors. Switching neurotrophin dependence. *Curr. Biol.*, **4**, 273-276.
- Dreyer, D., Lagrange, A., Grothe, C. and Unsicker, K. (1989) Basic fibroblast growth factor prevents ontogenetic death in vivo. *Neurosci. Letters*, **99**, 35-38.
- Eckenstein, F.P., Esch, F., Holbert, T., Blacher, R.W. and Nishi, R. (1990) Purification and characterization of a trophic factor for embryonic peripheral neurons: comparison with fibroblast growth factors. *Neuron*, **4**, 623-631.
- Eckenstein, F.P., Woodward, W.R. and Nishi, R. (1991) Differential localizations and possible functions of aFGF and bFGF in the central and peripheral nervous systems. *Annals of New York Academy of Sciences*, **638**, 348-360.
- Ernfors, P., Ibanez, C., Ebendal, T., Olson, L. and Persson, H. (1990) Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor: developmental and topographical expression in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 5454-5458.
- Ernfors, P., Lee, K.F. and Jaenisch, R. (1994) Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits. *Nature*, **368**, 147-150.
- Faktorovitch, E.G., Steinberg, R.H., Yasumura, D., Matthes, M.T. and Lavail, M.M. (1990) Photoreceptor degeneration in inherited retinal dystrophy delayed by basic fibroblast growth factor. *Nature*, **347**, 83-86.
- Flanders, K.C., Lüdecke, G., Engels, S., Cissel, D.S., Roberts, A.B., Kondaiah, P., Lafyatis, R., Sporn, M.B. and Unsicker, K. (1991) Localisation and actions of transforming growth factor- β s in the embryonic nervous system. *Development*, **13**, 183-191.
- Foarman, J. (1898) Über der ursachen welche die wachsthumrichtung der peripheren nervenfasern bei der regeneration bestimmen. *Beitr. Path. Anat. Allg. Path.*, **24**, 56-100.
- Gomez-Pinilla, F., Lee, J.W. and Cotman, C.W. (1994) Distribution of basic fibroblast growth factor in the developing rat brain. *Neuroscience*, **61**, 911-923.
- Gospodarowicz, D. (1974) Localization of a fibroblast growth factor and its effects alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. *Nature*, **249**, 123-127.
- Gospodarowicz, D. and Cheng, J. (1986a) Heparin protects basic and acidic FGF from inactivation. *J. Cell. Physiol.*, **128**, 475-484.
- Gospodarowicz, D., Neufeld, G. and Schweigerer, L. (1986b) Fibroblast growth factor. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **46**, 187-204.
- Gotz, R., Koster, R., Winkler, C., Raulf, F., Lottspeich, F. and Schartl, M.T.H. (1994) Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature*, **372**, 266-269.
- Greene, L.A. and Kaplan, D.R. (1995) Early events in neurotrophin signalling via Trk and p75 receptors. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **5**, 579-587.

- Grimes, M.L., Zhou, J., Beattie, E.C., Yuen, E.C., Hall, D.E., Valetta, K.S., Topp, J.H., LaVail, N.W., Bunnett, N.W. and Mobley, W.C. (1996) Endocytosis of activated *trkA*: evidence that nerve growth factor induces formation of signaling endosomes. *J.Neurosci.*, **16**, 7950-7964.
- Group ACTASAPI-IS, Brooks, B.R. and Sanjak, M. (1993) recombinant human ciliary neurotrophic factor (rhCNTF) in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients : phase I-II safety, tolerability and pharmacokinetic studies. *Neurology*, **43**, A416.
- Haase, G., Kennel, P., Pettmann, B., Vigne, E., Akli, S., Revah, F., Smalbruch, H. And Kahn, A. (1997) Gene therapy of murine motor neuron disease using adenoviral vectors for neurotrophic factors. *Nature Med.*, **3**,429-436.
- Hagihara, K., Watanabe, K., Chun, J. and Yamaguchi, Y. (2000) Glypican-4 is an FGF2-binding heparan sulfate proteoglycan expressed in neural precursor cells. *Dev.Dyn.*, **219**, 353-367.
- Hall, A.K. and Rao, M.S. (1992) Cytokines and neurokines: related ligands and related receptors. *Trends Neurosci.*, **15**, 35-37.
- Hallböök, F., Ibanez, C.F. and Persson, H. (1991) Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary. *Neuron*, **6**, 845-858.
- Hamburger, V. (1934) The effects of wing bud extirpation on the development of the central nervous system in chick embryos. *J.Exp.Zool.*, **68**, 845-858.
- Henderson, C.E., Phillips, H.S., Pollock, R.A., Davies, A.M., Lemeulle, C.A., Simmons, L., Moffet, B., Vandlen, R.A. and Simpson, L.C. (1994) GDNF a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. *Science*, **266**, 1062-1064.
- Hohn, A., Leibrock, J., Bailey, K. and Barde, Y.-A. (1990) Identification and characterization of a novel member of the nerve growthfactor/brain-derived neurotrophic factor family. *Nature*, **344**, 339-341.
- Ibáñez, C.F. (1998) Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. *Trends Neurosci.*, **21**, 438-444
- Ip, N.Y., Stitt, T.N., Tapley, P., Klein, R., Glass, D.J., Kandl, J., Greene, L.A., Barbacid, M. and Yancopoulos, G.D. (1993) Similarities and differences in the way neurotrophins interact with the *trk* receptors in neuronal and non-neuronal cells. *Neuron*, **10**, 137-149.
- Ishihara, A., Saito, H. and Abe, K. (1994) Transforming growth factor- β 1 and - β 2 promote neurite sprouting and elongation of cultured rat hippocampal neurons. *Brain Res.*, **639**, 21-25.
- Jaaro, H., Beck, G., Conticello, S.G. and Fainzilber, M. (2001) Evolving better brains: a need for neurotrophins? *Trens Neurosci.*, **24**, 79-85.
- Jeyarajah, D.R. and Thistlethwaite, J.R.Jr. (1993) General aspects of cytokine-release syndrome: timing and evidence of symptoms. *Transpl.Proc.*, **25**, 16-20.
- Jing, S., Wen, D., Yu, Y., Holst, P.L., Luo, Y., Fang, M., Tamir, R., Antonio, L., Hu, Z., Cupples, R., Louis, J.C., Hu, S., Altrock, B.W. and Fox, G.M. (1996) GDNF-induced activation of the ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR-alpha, a novel receptor for GDNF. *Cell*, **85**, 1113-1124.
- Jones, K.R., Farinas, I., Backus, C. And Reichardt, L.F. (1994). Targeted disruption of the BDNF gene perturbs brain and sensory neuron development but not motor neuron development. *Cell*, **76**, 267-282.
- Kaplan, D.R. and Miller, F.D. (1997) Signal transduction by the neurotrophin receptors. *Curr.Opin. in Cell Biol.*, **9**, 213-221.
- Kaisho, Y., Yoshira, K. and Nakahama, K. (1990) Cloning and expression of a cDNA encoding a novel human neurotrophic factor. *FEBS Letters*, **266**, 187-191.

- Kernie, S.G. and Parada, L.F. (2000) The molecular basis for understanding neurotrophins and their relevance to neurologic disease. *Aqrch.Neurology*, **57**, 654-657.
- Klein, R., Smeyne, R.J., Wurst, W., Long, L.K., Auerbach, B.A. and Alb, M. (1993) Targeted disruption of the *trkB* neurotrophin receptor genes results in nervous system lesions and neuronal death. *Cell*, **75**, 113-122.
- Klein, R. (1994) Role of neurotrophins in mouse neuronal development. *FASEB J.*, **8**, 738-744.
- Kotzbauer, P.T., Lampe, P.A., Heuckroth, R.O., Golden, J.P., Creedon, D.J., Johnson, E.M.Jr. and Milbrandt, J. (1996) Neurturin, a relative of glial-cell-line-derived neurotrophic factor. *Nature*, **384**, 467-470.
- Larkin, M. (1998) Nerve growth factor promising in diabetic neuropathy... and in HIV-related neuropathy. *Lancet*, **352**, 1039.
- Lefebvre, P.P., Staecker, H., Weber, T., Van de Water, T.R., Rogister, B. And Moonen, G. (1991) TGF β 1 modulates bFGF receptor message expression in cultured adult auditory neurons. *Neuroreport*, **2**, 305-308.
- Lemmon, S.K., Riley, M.C., Thomas, K.A., Hoover, G.A. Maciag, T. and Bradshaw, R.A. (1982) Bovine fibroblast growth factor: comparison of brain and pituitary preparations. *J.Cell Biol.*, **95**, 162-169.
- Levi-Montalcini, R. et Hamburger, V. (1951) Slective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo, *J.Exp.Zool.*, **116**, 321-362.
- Lewin, G.R., Ritter, A.M. and Mendell, L.M. (1993) Nerve growth factor induced hyperalgesia in the nonnatal and adult rat. *J.Neurosci.*, **13**, 2136-2149.
- Li, L., Wu, W., Lin, L.F., Lei, M., Oppenheim, R.W. and Houenou, L.J. (1995) Rescue of adult mouse motoneurons from injury-induced cell death by glial cell line-derived neurotrophic factor. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, **92**, 9771-9775.
- Lin, L.F.H., Mismser, D., Lile, J.D., Armes, L.G., Butler III, E.T., Vannice, J.L. and Collins, F.(1989) Purification, cloning and expression of ciliary neurotrophic factor (CNTF). *Science*, **246**, 1023-1025.
- Lin, L.F., Doherty, D.H., Lile, J.D., Bektesch, S. and Collins, F. (1993) GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science*, **260**, 1130-1132.
- Lin, L.F., Zhang, T.J., Collins, F. and Armes, L.G. (1994) Purification and initial characterization of rat B49 glial cell line-derived neurotrophic factor. *J.Neurochem.*, **63**, 758-768.
- Ludlam, W.H. and Kessler, J.A. (1993) Leukemia inhibitory factor and ciliary neurotrophic factor regulate expression of muscarinic receptors in cultured sympathetic neurons. *Dev.Biol.*, **155**, 497-506.
- Ludlam, W.H. and Kessler, J.A. (1993) Leukemia inhibitory factor and ciliary neurotrophic factor regulate expression of muscarinic receptors in cultured sympathetic neurons. *Development*, **155**, 497-506.
- Maisonpierre, P.C., Belluscio, L., Squinto, S., Ip, N.Y., Furth, M.E., Lindsay, R.M. and Yancopoulos, G.D. (1990) Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science*, **247**, 1446-1451.
- Manthorpe, M., Skaper, S.D., Williams, L.R. and Varon, S. (1986) Purification of adult rat sciatic nerve ciliary Neurotrophic factor. *Brain Res.*, **367**, 282-286.
- Martinou, J.C., Le VanThai, A., Valette, A. and Weber, M. (1990) Transforming growth Factor- β is a potent survival factor for rat embryo motoneurons in culture. *Dev.Brain Res.*, **52**, 175-181.

- Martinou, J.C., Martinou, I. and Kato, A.C. (1992) Cholinergic differentiation factor (CDF/LIF) promotes survival of isolated rat embryonic motoneurons in vitro. *Neuron*, **8**, 737-744.
- Martin-Zanca, D., Hughes, S.H. and Barbacid, M. (1986), A human oncogene formed by the fusion of truncated tropomyosin and protein kinases sequences. *Nature*, **319**, 743-748.
- Mazurek, N., Weskamp, G., Erne, P. And Otten, U. (1996) NGF induces mast cell degranulation without changing in intracellular calcium level. *FEBS Lett.*, **198**, 315-320.
- Meakin, S.O. and Shooter, E.M. (1992) The nerve growth factor family of receptors. *Trends Neurosci.* **15**, 323-331.
- Milbrandt, J., de Sauvage, F.J., Fahrner, T.J., Baloh, R.H., Leitner, M.L., Tansey, M.G., Lampe P.A., Heuckeroth, R., O., Kotzbauer, T., Simburger, K.S, Golden, J.P., Davies, J.A., Vejsada, R., Kato, A.C., Hynes, M., Sherman, D., Nishimura, M., Wang, L.C., Vandlen, R., Moffat, B., Klein, R.D., Poulsen, K., Gray, C., Garces, A. and Johnson EM Jr. (1998) Persephin, a novel neurotrophic factor related to GDNF and Neurturin. *Neuron*, **20**, 245-253.
- Morrisson, R.S., Sharma, A., De Vellis, J. and Bradshaw, R.A. (1986) Basic fibroblast growth factor supports the survival of cerebral cortical neurons in primary culture. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, **83**, 7537-7541.
- Olson, L., Backman, L; Ebendal, T., Eriksdotter-Jonhagen, M., Hoffer, B., Humpel, C., Freedman, R., Giacobini, M., Meyerson, B. And Nordberg, A. (1994) Role of growth factors in degeneration and regeneration in the central nervous system: clinical experiences with NGF in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *J.Neurol.*, **242**, 12-15.
- Oppenheim, R.W., Houenou, L.J., Johnson, J.E., Lin, L.F., Li, L., Lo, A.C., Newsome, L., Prevet, D.M. and Wang, S. (1995) Developing motor neurons rescued from programmed and axotomy-induced cell death by GDNF. *Nature*, **373**, 344-346.
- Orike, N., Middleton, G., Borthwick, E., Buchmen, V., Cowen, T. And Davies, A.M. (2001) Role of PI 3-kinase, Akt and Bcl-2-related proteins in sustaining the survival of neurotrophic factor-independent adult sympathetic neurons. *J.Cell Biol.*, **154**, 995-1005.
- Ornitz, D.M. (2000) FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development. *Bioessays*, **22**, 108-112.
- Perraud, F., Besnard, F., Pettmann, B., Sensenbrenner, M. and Labourdette, G. (1988) Effect of acidic and basic Fibroblast Growth Factor (aFGF and bFGF) on the proliferation and the glutamine synthetase expression of rat astroblasts in culture. *Glia*, **1**, 124-131.
- Ramon Y Cajal, S. (1892) La rétine des vertébrés. *La Cellule*, **9**, 121-246.
- Ramon Y Cajal, S. (1928) Degeneration and Regeneration of the nervous system. Oxford University Press, London.
- Rogister, B., Delrée, P., LePrince, P., Martin, D., Sadzot, C., Malgrange, B., Munaut, C., Rigo, J.M., Lefebvre, P.P., Octave, J.N., Schoenen, J. and Moonen, G. (1993) Transforming Growth Factor β as a neuro-glial signal during peripheral nervous system response to injury. *J.Neurosci.Res.*, **34**, 32-43.
- Rosenthal, A., Goeddel, D.V., Nguyen, T., Lewis, M., Shih, A., Laramée, G.R., Nikoliks, K. and Winslow, J.W. (1990) Primary structure and biological activity of a novel human neurotrophic factor. *Neuron*, **4**, 767-773.
- Saarma, M. (2000) GDNF – a stranger in the TGF- β family? *Eur.J.Biochem.*, **267**, 6968-6971.
- Sendtner, M., Holtmann, B., Kolbeck, R., Thoene, H. And Barde, Y.-A. (1992) Brain-derived neurotrophic factor prevents the death of motoneurons in newborn rats after nerve section. *Science*, **360**, 757-759.

- Sievers, J., Hausmann, B., Unsicker, K. And Bery, M. (1987) Fibroblast growth factors promote the survival of adult rat retinal ganglion cells after section of the optic nerve. *Neurosci.Letters*, **76**, 156-162.
- Snider, W.D. (1994) Functions of the neurotrophins during the nervous system development: what the knockouts are teaching us. *Cell*, **77**, 627-638.
- Snyder, S.H., Sabatini, D.M., Lai, M.M., Steiner, J.P., Hamilton, G.S. and Suzdak, P.D. (1998) Neural actions of immunophilin ligands. *Trends Pharmacol.*, **19**, 21-26.
- Staecker, H., Van de Water, T.R., Lefebvre, P.P., Liu, W., Moghadassi, M., Galinovic-Schwartz, V., Malgrange, B. And Moonen, G. (1996) BDNF and NT-3 play unique roles in the development and patterning of innervation of the mammalian inner ear. *Dev.Brain Res.*, **29**, 49-60.
- Stahl, N., Davis, S., Wong, V., Taga, T., Kishimoto, T., Ip, N.Y. and Yancopoulos, G.D., (1993) Crosslinking identifies leukemia inhibitory factor-binding protein as a ciliary neurotrophic factor receptor component. *J.Biol.Chem.*, **268**, 7628-7631.
- Thoenen, H., Barde, Y.A., Davies, A.M. and Johnson, J.E. (1987) Neurotrophic factors and neuronal death. *Ciba Found.Symp.*, **126**, 82-95.
- Thomas, K.A., Rios-Candelore, M. and Fitzpatrick S. (1984) Purification and characterization of acidic fibroblast growth factor from bovine brain. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, **81**, 357-361.
- Tomac, A., Lindqvist, E., Lin, L.F., Ogren, S.O., Young, D., Hoffer, B.J. and Olson, L. (1995) Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF in vivo. *Nature*, **373**, 335-339.
- Treanor, J.J., Goodma, L, de Sauvage, F., Stone, D.M., Poulsen, K.T., Beck, C.D., Gray, C., Armanini, M.P., Pollock, R.A., Hefti, F., Phillips, H.F., Goddard, A., Moore, M.W., Buj-Bello, A., Davies, A.M., Asai, N., Takahashi, M., Vandlen, R., Henderson, C.E. and Rosenthal, A. (1996) Characterization of a multicomponent receptor for GDNF. *Nature*, **382**, 80-83.
- Trupp, M., Ryden, M., Jornawall, H., Funakoshi, H., Timmusk, T., Arenas, E. and Ibanez, C.F. (1995) Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons. *J.Cell Biol.*, **130**, 137-148.
- Trupp, M, Arenas, E., Fainzilber, M., Nilsson, A.S., Sieber, B.A., Grigoriou, M., Kilkenny, C., Salazar-Grueso, E., Pachnis, V., Arumae, U., Sariola, H., Saarma, M. And Ibanez, C. (1996) Functionnal receptor for GDNF encoded by the c-retproto-oncogene. *Nature*, **381**, 785-788.
- Unoki, K. and lavail, M.M. (1994) Protection of the rat retina from ischemic injury by brain-derived neurotrophic factor, ciliary neurotrophic factor, basic fibroblast growth factor. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **35**, 907-915.
- Unsicker, K. , Reichert-Preibsch, H., Schmidt, R., Pettmann, B. Labourdette, G. and Sensenbrenner, M. (1987) Astroglial and fibroblast growth factors have neurotrophic functions for cultured peripheral and central nervous system neurons. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, **84**, 5459-5463.
- Von Bartheld, C.S. and Johnson, J.E. (2001) Target-derived BDNF (brain-derived neurotrophic factor) is essential to the survival of developing neurons in the isthmo-optic nucleus. *J.Comp.Neurol.*, **433**, 550-564.
- Waller, A.V., (1852) Sur la reproduction des nerfs et sur la structure des ganglions spinaux. *Arch.Anat.Physiol.Wiss.Med.*, **11**, 392-401.
- Wallicke, P., Cowan, W.M., Ueno, N., Baird, A. and Guillemin, R. (1986) Fibroblast growth factor promotes survival of dissociated hippocampal neurons and enhances neurite extension. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, **83**, 3012-3016.

- Yan, Q., Matheson, C. and Lopez O.T. (1995) In vivo neurotrophic effects of GDNF on neonatal and adult facial motor neurons. *Nature*, **373**, 341-344.
- Yuen, E.C., Howe, C.L., Li, Y., Holtzman, D.M. and Mobley W.C. (1996) Nerve growth factor and the neurotrophic factor hypothesis. *Brain Dev.*, **18**, 362-368.
- Zurn, A.D., Baetge, E.E., Hammang, J.P., Tan, S.A. and Aebischer, P. (1994) Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), a new neurotrophic factor for motoneurons. *Neuroreport*, **6**, 113-118.

Légendes :

Tableau 1 : Résumé des principaux facteurs neurotrophiques décrits, de leurs récepteurs correspondants ainsi que de leur cible neuronale principale.

Tableau 2 : Description résumée des modifications des populations neuronales observées chez différentes souris KO pour divers gènes de la famille des neurotrophines. Les pourcentages donnés concernent le nombre de neurones observés chez ces animaux par rapport à un animal sauvage (ND : Non Déterminé).

Tableau 3 : Description des pathologies neurologiques et psychiatriques faisant ou pouvant faire l'objet d'un essai thérapeutique à l'aide de FNTs.

Figure 1 : Schéma représentant les membres des quatre familles de facteurs neurotrophiques ainsi que leur récepteur à haute affinité (à gauche pour chaque famille) et de basse affinité (à droite pour chaque famille). Les flèches représentent les interactions préférentielles des ligands avec un récepteur. Les flèches en pointillé représentent des interactions possibles et relativement fréquentes quoique moins spécifiques.

Figure 2 : Après liaison du ligand sur le récepteur trans-membranaire, on assiste à une dimérisation du récepteur (schématisée par la flèche verte à deux têtes entre les deux monomères de récepteur). Cette dimérisation a pour conséquence une activation de la kinase intracellulaire et on assiste à une transphosphorylation des résidus tyrosine, le monomère A phosphorylant les tyrosines du monomère B et vice et versa. Les tyrosines phosphorylées sont alors capables d'attirer vers la face cytoplasmique de la membrane cellulaire différentes protéines du cytosol qui ont une affinité pour les phosphotyrosines. On active de cette façon différentes voies de signalisation schématisées avec en fin de compte, une modification du métabolisme cellulaire, une ré-organisation du cytosquelette et une modulation de la transcription de différents gènes au niveau du noyau.

Facteur	Récepteur	Cibles
Neurotrophines NGF	TrkA et p75LNGFR	Neurones périphériques sensitifs et sympathiques ; neurones cholinergiques centraux
BDNF	TrkB et p75LNGFR	Divers neurones périphériques ; motoneurones ; neurones cholinergiques centraux
NT-3	TrkC et p75LNGFR	Rétine, Tectum, Neurones du ganglion spiral
NT-4/5	TrkB et p75LNGFR	
Neurokines CNTF	LIF- β /gp130 et CNTF α R	Neurones cholinergiques périphériques ; motoneurones
Famille du GDNF GDNF	c-Ret et GFR α 1	Neurones dopaminergiques
NRTN	c-Ret et GFR α 2	Neurones dopaminergiques
PSP	c-Ret et GFR α 3	Neurones dopaminergiques et neurones périphériques
ART	c-Ret et GFR α 4	Neurones dopaminergiques et neurones périphériques
Autres aFGF	FGFR1 à 4	Neurones centraux immatures
bFGF	FGFR1 à 4	Neurones centraux immatures ; cellules souches nerveuses

Tableau 1

	Gène inactivé									
	NGF	TrkA	NT-3	TrkC	BDNF	BDNF/NT-3	NT-4	BDNF/NT-4	TrkB	P75
Neurones Périphériques										
Ganglion cervical	5%	5%	50%	75%	Normal	ND	Normal	Normal	Normal	Normal
Ganglion du trijumeau	30%	30%	40%	ND	60%	ND	Normal	70%	40%	Normal
Ganglion géniculé	ND	ND	ND	ND	52%	ND	50%	6%	ND	ND
Ganglion pétreux	Normal	Normal	60%	ND	41%	ND	42%	10%	10%	ND
Ganglion vestibulaire	ND	ND	65%	ND	20%	1%	79%	18%	ND	ND
Ganglion Spiral	ND	ND	13%	ND	93%	0%	ND	ND	ND	ND
Ganglions des racines dorsales	30%	30%	35%	80%	70%	ND	86%	Normal	70%	Réduction
Neurones Centraux										
Noyau Facial	ND	ND	Normal	ND	Normal	ND	Normal	Normal	30%	ND
Motoneurones	ND	ND	Normal	ND	Normal	ND	Normal	Normal	70%	ND
Neurones cholinergiques	Réduction	Réduction	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Tableau 2

Atteinte	Facteur Neurotrophique	Bases Physiologiques
Maladie d'Alzheimer	NGF	Effet neurotrophique sur les neurones cholinergiques centraux
Sclérose latérale amyotrophique	BDNF, CNTF, GDNF, bFGF, NT-4/5	Effet neurotrophique sur les motoneurones embryonnaires
Polyneuropathies iatrogènes	NGF, NT-3	Effets bénéfiques sur les modèles murins d'atteinte motoneuronale
Polyneuropathie diabétique	NGF, NT-3	Effet neurotrophique sur les neurones sensitifs des ganglions des racines dorsales
Maladie de Parkinson	BDNF, GDNF	Effet neurotrophique sur les neurones sensitifs des ganglions des racines dorsales
Assuétudes	BDNF, NT-3, NT-4/5	Prévention des lésions induites par la 6-OH-DOPA et le MPTP
Dépression	BDNF	Diminution des modifications observées dans les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale.
		Protection de la perte des neurones sérotoninergiques induite par la p-chloroamphétamine ; les électrochocs stimulent
		l'expression de BDNF et de <i>trkB</i> ; effet antidépresseur du BDNF dans des modèles animaux.
Surdité de perception	BDNF, NT-3	Effet neurotrophique sur les neurones du ganglion spiral ; prévention des lésions
		excitotoxiques de ces neurones.

Tableau 3

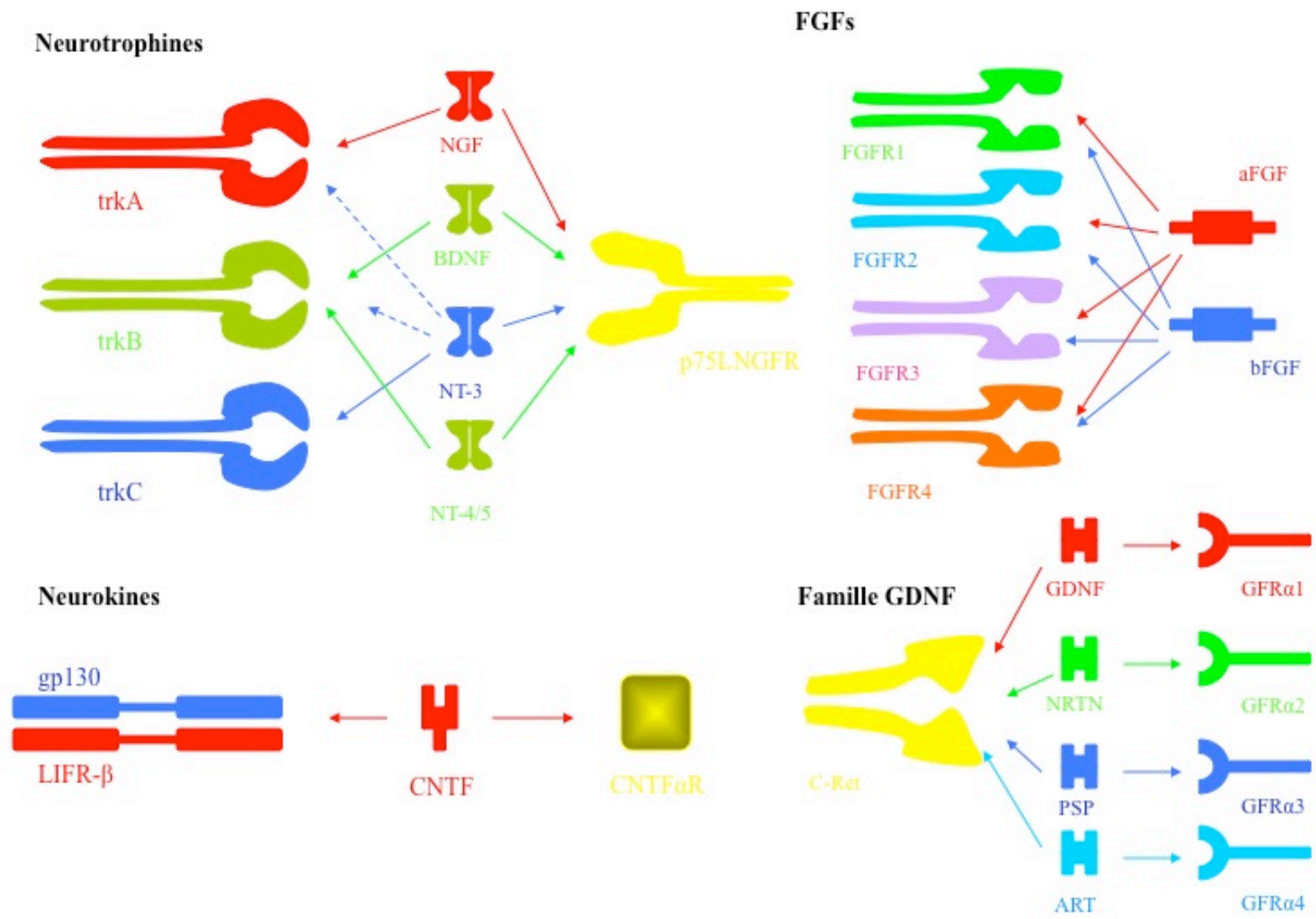


Figure 1

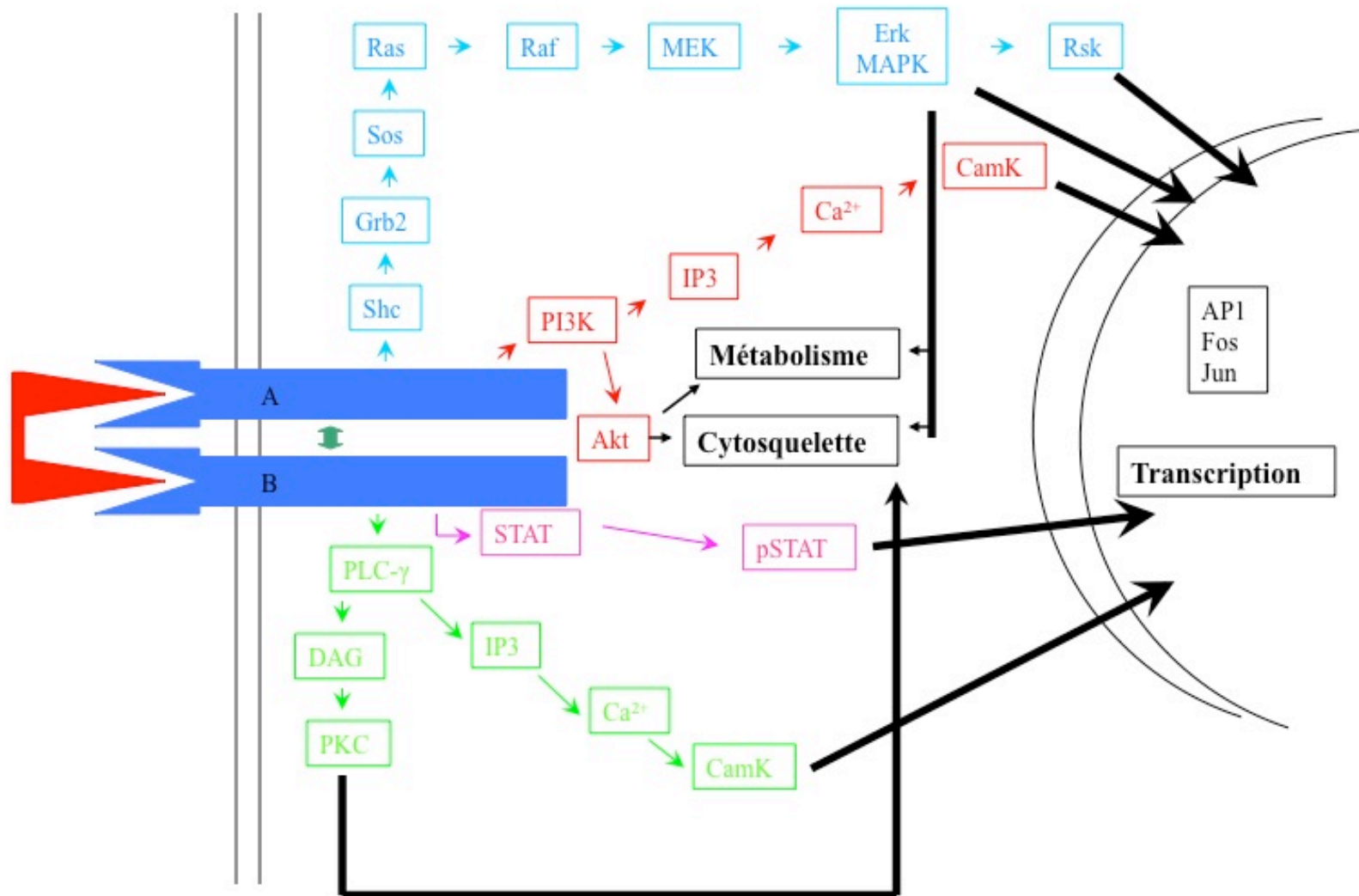


Figure 2