

prescrit depuis longtemps, dans tous les pays et pour la même maladie ; enfin, l'efficacité est douteuse lorsque le médicament ne fait l'objet ni d'études publiées ni d'un consensus fort.

Le service médical rendu dépend également de l'effet recherché : un médicament ou un traitement préventif peut-être mieux coté qu'un traitement symptomatique. En outre, le service médical rendu est plus important lorsque, dans une stratégie thérapeutique, le médicament est prescrit en première intention plutôt qu'en deuxième intention. À l'inverse, il est faible quand le médicament est prescrit en appoint. L'absence d'alternatives thérapeutiques à ce médicament augmente son service médical rendu.

Enfin, l'intérêt en termes de santé publique est le dernier critère d'évaluation : un médicament qui évite une longue et coûteuse hospitalisation sera bien remboursé.

À partir de ces quatre critères, les professionnels du groupe de travail ont statué sur le service médical rendu : majeur, modéré, faible ou insuffisant ; le résultat a été validé ensuite par la commission de la transparence. Notons que parmi les médicaments dont le service médical rendu a été déclaré insuffisant, on trouve ceux dont l'effet se distingue peu de celui d'un placebo : la commission conseille de ne pas les rembourser. Le coût social de l'effet placebo semblait prohibitif, même en l'absence d'autre médication.

Informés des verdicts de la commission, les fabricants des médicaments disposaient de recours : un dossier concis sur le médicament était examiné par la commission et, dans un second temps, une audition permettait à l'industriel de défendre son produit. Peu d'avis ont été modifiés au terme de ces deux démarches. La commission a enfin confié les résultats de son étude – il s'agit de simples « avis » – au ministère de la Santé pour que des mesures soient éventuellement prises.

Cette démarche s'inscrit dans une politique de maîtrise des dépenses de santé publique, notamment en vue de financer la Couverture médicale universelle, selon laquelle tout citoyen français, quelle que soit sa situation, peut se faire rembourser ses soins. Quelques questions subsistent. Pourquoi l'homéopathie, si controversée et remboursée jusqu'à 65 pour cent, n'est-elle pas concernée par cette réévaluation ? Si un médicament n'est plus remboursé, le patient ne choisira-t-il pas un médicament différent, plus cher mais remboursé ? Comment le ministère va-t-il négocier avec les industries pharmaceutiques qui voient dans cette réévaluation une baisse de leur chiffre d'affaire ? Devant les réactions et le lobbying des industriels, le ministère pourrait faire machine arrière.

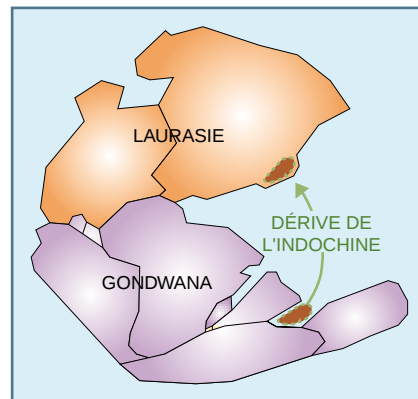
Fossiles et géographie de l'ère primaire

Des restes de reptiles, découverts au Laos, indiquent l'époque de la rencontre de l'Indochine avec l'Asie.

En 1896, le géologue français H. Counillon découvre un crâne d'animal préhistorique dans des couches de sol rouges près de Luang Prabang, au Nord du Laos. L'appartenance de ce fossile à un groupe de reptiles est vite établie, mais son identité précise reste controversée pendant les premières décennies du ^{xx}e siècle. Puis ce fossile tombe dans l'oubli et on en perd même la trace. L'histoire troublée de l'Indochine rend par la suite les prospections impossibles.

Au début des années 1990, une équipe du Muséum national d'histoire naturelle a décidé de partir sur les traces de Counillon. Elle a découvert de nouveaux fossiles qui éclairent la géographie de l'Asie du Sud-Est à la fin de l'ère primaire, il y a environ 250 millions d'années.

Bernard Battail et ses collègues ont entrepris une série de prospections, dans le cadre d'une mission franco-laotienne dirigée par Philippe Taquet. Ils sont d'abord allés à l'endroit approximatif (la carte d'origine manque de précision) où Counillon avait découvert le premier fossile, une zone dans la forêt qui s'étend en face de la ville de Luang Prabang, sur l'autre rive du Mékong. Les premières prospections sont décevantes et les conditions difficiles : dans ce petit bassin sédimentaire couvert de végétation, les affleurements de couches géologiques rouges susceptibles de livrer des fossiles sont limités à des zones érodées de faible étendue. De plus, à la saison des pluies, les précipitations abondantes empêchent toute prospection.

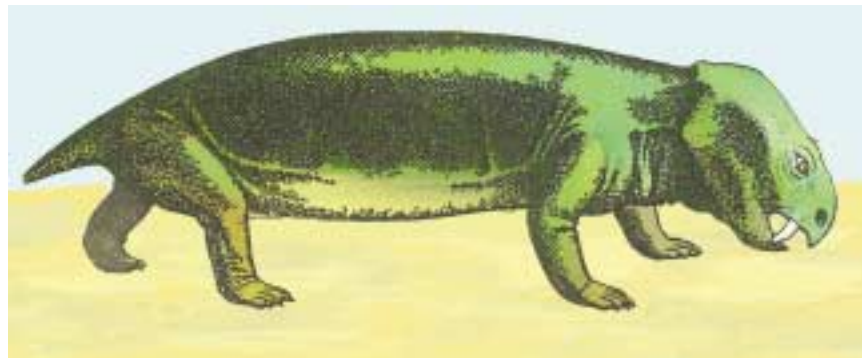


La disposition des continents, il y a 250 millions d'années : l'Indochine avait alors atteint l'Asie, après s'être détachée du Gondwana et avoir dérivé à travers l'océan.

À force de persévérance, les paléontologues découvrent les premiers crânes, puis prospectent systématiquement tous les affleurements de couches rouges. Le rythme des découvertes s'accélère. Les campagnes de prospection, qui ont lieu chaque année, s'achèvent en décembre 1999.

La collection de fossiles ainsi rassemblée comprend des amphibiens et, surtout des reptiles, représentés notamment par une dizaine de crânes. Ces derniers sont des reptiles mammaliens (certains de ces animaux, probablement ovipares, ont engendré les mammifères) appartenant à un groupe qui s'est éteint sans descendance, les dicynodontes. Il s'agit d'animaux terrestres, quadrupèdes, dont les membres restaient fléchis pendant la locomotion, tels ceux des crocodiles actuels (sans parenté avec les précédents). Ils avaient des mâchoires en forme de bec. La plupart d'entre eux avaient une denture réduite à une paire de canines supérieures. C'était le groupe de vertébrés terrestres végétariens le plus commun à la fin de l'ère primaire et au début de l'ère secondaire. Il se divise en plusieurs genres, comprenant eux-mêmes de nombreuses espèces.

Les reptiles découverts au Laos mesuraient environ un mètre de long, ce qui



Reconstitution d'un reptile mammalien du groupe dont font partie les fossiles laotiens.

Silence éloquent

Les ARN messagers sont des intermédiaires essentiels entre les gènes et les protéines. On a découvert que des petites constructions moléculaires constituées de doubles brins d'ARN sont de puissants inhibiteurs de gènes. De tels inhibiteurs semblent très répandus parmi tous les organismes vivants, des parasites aux mammifères, des vers nématodes aux plantes et aux champignons. Dès qu'un ARN est en présence de l'ARN double brin correspondant, il est dégradé. L'expression des gènes est vitale, mais leur silence ne l'est pas moins. Ce mécanisme par l'ARN double brin serait un rempart naturel contre l'expression d'ADN étranger introduit accidentellement dans un génome. Ces ARN doubles brins pourraient être un instrument de choix pour identifier les innombrables gènes découverts dans le cadre du programme international de séquençage du génome humain.

Tempête dans un verre de bière

Pourquoi les bulles de la bière, sensées remonter vers le haut du verre, descendent-elles parfois? Des chercheurs australiens ont élucidé le mystère : le comportement des bulles dépend de leur taille et de la forme du verre. Les bulles situées au centre du verre remonte bien à la surface, mais entraînent du liquide avec elles, qui redescend le long des parois, en emportant les plus petites bulles vers le fond.

De la plume au plastique

Un chimiste américain a inventé un procédé pour transformer les plumes des poulets d'élevage en matières plastiques ou en fibres absorbantes. Le problème du recyclage des plumes est de taille : aux États-Unis, deux mille tonnes de plumes sont produites chaque

année. Seule la partie légère des plumes est intéressante : elle est séparée du tuyau central par déchiquetage et passage dans un courant gazeux. Après un traitement chimi-

que qui détruit les liaisons protéiques de la kératine, puis compression et laminage dans une presse hydraulique, les plumes sont sous forme de films plastiques. Cette matière plastique peu coûteuse a, de plus, l'avantage d'être biodégradable.

en fait des animaux de taille moyenne, dans leur groupe. D'après un premier examen, les crânes récoltés au Laos appartiennent tous à un même genre (nommé *Dicynodon*) dont les représentants vivaient à la fin de l'ère primaire. Les paléontologues les ont comparés aux figures représentant le crâne découvert par Counillon et ont conclu que celui-ci appartient aussi à ce genre. Parmi les auteurs anciens, plusieurs pensaient avoir affaire à un autre genre du début de l'ère secondaire. À l'époque, l'identification était difficile, car le fossile n'était qu'un fragment.

Le genre des reptiles découverts au Laos était répandu sur de nombreux continents : on en trouve des restes en Afrique australe, en Écosse, en Russie et en Chine. L'extension de son aire de répartition au Laos éclaire la paléogéographie.

À la fin de l'ère primaire, les terres étaient rassemblées en une gigantesque masse continentale, subdivisée en deux supercontinents, la Laurasia au Nord (composée de l'Amérique du Nord et de l'Eurasie), et le Gondwana au Sud.

Le bloc indochinois, qui faisait initialement partie du Gondwana, a lentement dérivé à travers l'océan avant d'entrer en contact avec l'Asie. Les reptiles laotiens se déplaçaient uniquement à pied sec : d'après leur anatomie, ils auraient été incapables de nager sur de grandes distances. Leur présence au Laos à la fin de l'ère primaire montre qu'un contact terrestre entre l'Indochine et l'Asie existait à l'époque. Elle confirme que la rencontre entre ces deux blocs avait eu lieu à la fin de l'ère primaire, il y a au moins 250 millions d'années.

«Cellules» entrouvertes

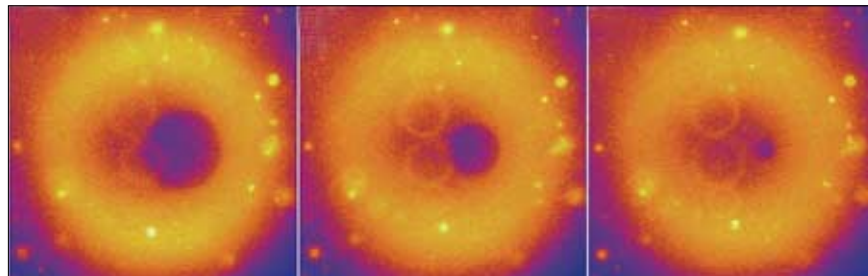
Quand elles adhèrent à un support, des cellules artificielles s'ouvrent et se dégonflent progressivement.

Comment introduire les principes actifs des médicaments dans les cellules de l'organisme? Ou comment y introduire l'ADN qui doit pallier une déficience génétique? Pour atteindre les cellules, portées par le sang, les substances thérapeutiques doivent être solubles dans l'eau, mais alors elles ne peuvent pas traverser la membrane cellulaire, qui est imperméable aux composés hydrosolubles. À l'Institut Curie, Françoise Brochard et Olivier Sandre ont exploré l'ouverture de pores dans des «vésicules», qui sont des systèmes artificiels, analogues aux cellules vivantes. De tels pores pourraient être empruntés par des principes actifs si l'on savait commander leur ouverture. Doubles couches de molécules «amphiphiles» (ces molé-

cules ont une partie soluble dans l'eau et une partie non soluble), les membranes cellulaires sont équipées de canaux sélectifs, qui laissent entrer ou sortir les ions, et de diverses pompes ou systèmes qui absorbent les nutriments et évacuent les déchets. Toutefois ces pompes et systèmes ne véhiculent généralement pas les principes actifs des médicaments, parce que ces derniers ont une structure chimique différente de celle des molécules échangées par les cellules avec leur milieu.

Pourquoi la médecine est-elle quand même efficace? Les biologistes soupçonnaient l'existence de pores, c'est-à-dire d'ouvertures dans la membrane cellulaire. Pour déterminer comment ces pores s'ouvrent et se ferment, les physico-chimistes de l'Institut Curie ont examiné expérimentalement ceux de vésicules qu'ils créent *in vitro*.

Les vésicules sont constituées d'une membrane enfermant une solution aqueuse (qui provient du milieu où l'on a formé les vésicules). Dans de tels systèmes, on sait introduire à volonté des composés dont on examine la libération. Dans les expériences effectuées, les physico-chimistes ont introduit des



Fermeture d'un pore (en bleu), qui avait été ouvert sur la face supérieure d'une vésicule. Ces vésicules mesurent environ 50 micromètres de diamètre, et les pores subsistent une dizaine de secondes.

marqueurs fluorescents dans la membrane, afin d'observer l'ouverture des pores.

Ces dernières années, les recherches sur la thérapie génique ont conduit à plusieurs méthodes pour percer des trous dans les membranes cellulaires. L'électroporation, par exemple, est l'application d'un courant électrique dans la solution où les cellules sont suspendues. De même, l'ajout de détergents ou, plus généralement, de molécules amphiphiles variées modifie la perméabilité membranaire. Toutefois ces méthodes, bien qu'efficaces, restent mal comprises. Avec O. Sandre et L. Moreaux, F. Brochard a préféré étirer les membranes en utilisant les forces naturelles d'adhérence des vésicules à des supports (des verres diversement traités). En l'absence de tension, les vésicules se comportent comme des bulles «dégonflées» ; leur membrane ondule sous l'effet des incessants mouvements aléatoires des molécules. En revanche, les vésicules étirées par l'adhérence à un support ont une membrane qui se déplie et se met sous tension. Les premières observations ont montré que les vésicules devenaient alors extrêmement perméables à l'eau. Des pores s'ouvraient-ils et se fermaient-ils trop rapidement pour être observés au microscope ?

Pour observer l'ouverture des pores, les physico-chimistes ont modifié la viscosité de la solution où ils créaient les vésicules. Ils ont alors eu le temps d'observer que les vésicules sont comme une membrane tendue : quand un pore s'ouvre dans la membrane, celle-ci laisse échapper un peu de la solution interne ; la membrane est alors moins étirée, et le pore se referme. Plus on augmente la viscosité de la solution, plus on ralentit cette fuite du liquide encapsulé, et plus les trous restent ouverts longtemps.

Dans l'eau, les pores sont «avortés», car la fuite très rapide de liquide relâche la tension avant que les pores atteignent une taille observable par microscopie de fluorescence. Trop petits pour être observés, ces pores sont cependant géants à l'échelle moléculaire (100 à 1 000 fois plus gros que les canaux membranaires), ce qui explique que les vésicules sous tension, même très faible, deviennent des passoirs ! Les cellules vivantes, elles, sont équipées d'un cytosquelette (une sorte de filet de pêche, avec des mailles 100 fois plus grosses que des molécules) fixé à la membrane, ce qui limite sans doute la taille des pores. L'étude de globules rouges devrait révéler comment le cytosquelette modifie la taille des pores transitoires.

Comprenant la dynamique de ces pores, pourra-t-on administrer, avec les médicaments, des molécules qui modifieront la tension des membranes cellulaires, afin de favoriser l'entrée des principes actifs ?

Ver à soie transgénique

Aujourd'hui, on sait incorporer, à la demande, des gènes dans le génome du ver à soie : on pourra extraire de la soie des protéines d'intérêt thérapeutique.

Domestiqué depuis plus de 4 000 ans, le ver à soie, *Bombyx mori*, survit grâce à l'homme. Pour s'y métamorphoser, les vers fabriquent un cocon constitué d'un fil unique, plus long que un kilomètre. On dévide le cocon en faisant fondre, dans l'eau chaude, la protéine (le grès) qui protège le fil et assure la cohésion de l'ensemble. On récupère alors le précieux fil de soie sans le casser.

La soie est produite par les glandes séricigènes ; la chenille bave par une filière un fil fluide qui se solidifie rapidement à l'air. Les équipes lyonnaises de Gérard Chavancy et Bernard Mauchamp, à l'Unité séricicole de l'INRA, et de Pierre Couble, du Centre de génétique moléculaire et cellulaire du CNRS, ont obtenu une lignée transgénique de ver à soie qui produit, en même temps que la soie, la protéine codée par un gène étranger, introduit dans le génome du ver.

Cette lignée a été longue à obtenir, car, contrairement à la drosophile, voire aux petits mammifères, les vers à soie ne se sont pas laissés aisément modifier. Pour transformer la drosophile, on utilise depuis longtemps des constructions génétiques constituées d'un élément transposable auquel on accole le gène à étudier. L'élément transposable assure l'intégration de cette construction dans le génome de la drosophile. On a ainsi

obtenu des centaines de lignées de drosophiles génétiquement modifiées, mais la méthode n'est pas utilisable pour les vers à soie. Pour les mammifères, la méthode est encore plus simple, puisque l'on injecte directement dans le noyau de l'œuf modifié le gène étudié, lequel s'intègre spontanément dans le génome. En revanche, la méthode ne s'applique pas pour le ver à soie, car le noyau est difficilement accessible.

L'équipe de l'INRA semblait donc dans une impasse, quand on a découvert un autre «véhicule» de gène, l'élément nommé *PiggyBac*. Grâce à lui, on réussit désormais à introduire des gènes étrangers dans le génome du ver à soie. Dans les deux heures qui suivent la fécondation d'un œuf, on y introduit la construction génique, constituée de *PiggyBac* auquel est accolé le gène étranger ; l'ensemble s'intègre dans l'ADN du receveur. Lorsque le gène étranger est correctement intégré, il se transmet de génération en génération.

Quel est l'intérêt des vers à soie transgéniques ? Les glandes séricigènes «livrent» directement le produit recherché en même temps que la soie filée. Quand on réussit à faire produire à un animal une protéine d'intérêt, il reste souvent une difficulté de taille : sa récupération. Quand la protéine est produite par toutes les cellules de l'animal transgénique, on doit trouver une méthode d'extraction, par exemple en broyant les cellules, ce qui présente le risque d'extraire, en même temps que la protéine recherchée, des substances indésirables spécifiques de l'animal et entraînées avec la protéine intéressante lors du procédé de purification. C'est pourquoi l'on a mis au point des mammifères transgéniques : on recueille la protéine d'intérêt produite par les glandes mammaires en trayant



Larve de ver à soie transgénique, où l'on a introduit le gène d'une protéine fluorescente verte.

M. Mauchamp - Unité nationale séricicole - INRA

l'animal. Or le ver à soie expulse spontanément le contenu de ses glandes séricigènes, que l'on récupère facilement. On sépare la protéine recherchée des protéines de la soie sans risque de contamination par des constituants cellulaires.

Ainsi, une lignée stable de vers à soie modifiés donnerait une protéine facile à récupérer dans le fil de soie. De surcroît, ces usines de production miniatures seraient très flexibles, car on sait maîtriser les élevages de vers à soie, notamment le moment de l'éclosion des œufs.

Ce type d'élevage serait beaucoup moins contraignant que celui des souris ou autres mammifères transgéniques.

Après avoir fourni le matériau des soieries qui ont fait la renommée des soyeux lyonnais, les vers à soie – génétiquement modifiés – fourniront peut-être demain des protéines thérapeutiques faciles à purifier et dont on pourrait ajuster la production à la demande. En outre, comme on maîtrise désormais l'introduction de nouveaux gènes dans le génome de ces vers, les équipes lyonnaises espèrent les rendre

résistants aux champignons, virus et autres parasites qui dévastent parfois les élevages. On pourrait aussi introduire des gènes qui codent d'autres types de soie (par exemple, le fil d'araignée, plus résistant que le fil de soie) ; on obtiendrait ainsi un fil qui aurait les propriétés de la soie, mais une résistance supérieure, de sorte que de nouvelles applications seraient envisageables. Enfin, le ver à soie étant totalement inféodé à l'homme, il ne risque pas de disséminer dans la nature les gènes que l'on y introduira.

Lutte tous azimuts contre le VIH

Plusieurs nouvelles molécules inhibent la réplication du VIH in vitro. Combien d'entre elles seront efficaces in vivo ?

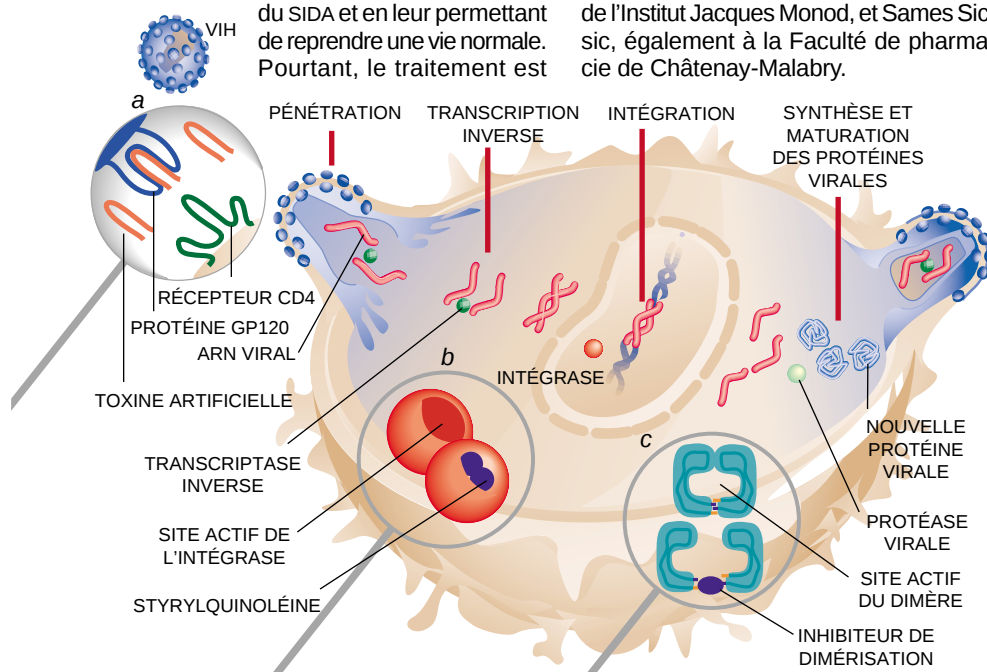
Les trithérapies, des traitements qui associent plusieurs molécules luttant contre le virus de l'immunodéficience humaine, le VIH, ont radicalement changé le pronostic des personnes séropositives en retardant la phase du SIDA et en leur permettant de reprendre une vie normale. Pourtant, le traitement est

lourd, on ignore ses effets à long terme et, s'il réduit considérablement la quantité de virus dans l'organisme, il ne l'élimine pas. Plusieurs équipes continuent à chercher d'autres moyens de lutte contre ce virus : soit en essayant de l'empêcher de pénétrer dans les cellules, comme une équipe du département d'ingénierie et d'études des protéines du CEA, à Saclay, dirigé par André Menez ; soit en empêchant l'intégration du matériel génétique viral au génome cellulaire, comme l'équipe de Jean d'Angelo, à la Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry ; soit encore en perturbant l'étape de synthèse des protéines virales, comme Michèle Reboud, de l'Institut Jacques Monod, et Sames Sicsic, également à la Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry.

Ainsi, l'équipe de Saclay a synthétisé une mini-protéine destinée à contrer la toute première étape de l'infection, c'est-à-dire l'interaction du virus et de la cellule qu'il cherche à infecter. Le virus reconnaît ses cibles, les lymphocytes T, grâce à la protéine virale d'amarrage, nommée GP120 ; cette glycoprotéine de l'enveloppe virale a pour cible cellulaire une protéine de la membrane des lymphocytes, le récepteur CD4. Dans la partie centrale de ce récepteur, une boucle de neuf acides aminés constitue l'élément clé de la reconnaissance : la GP120 a une cavité où s'insère cette boucle protubérante du CD4 en forme d'épingle à cheveux.

La mini-protéine sélectionnée par l'équipe de Saclay est une toxine de venin de scorpion, la scyllatoxine, dont une région ressemble beaucoup à celle en épingle à cheveux du récepteur CD4. Les biologistes ont remplacé les acides aminés de la boucle de la toxine par les neuf acides aminés de la boucle fonctionnelle du récepteur CD4. Ils ont ainsi obtenu une toxine artificielle (dont on inactive la fonction toxique) qui reproduit exactement la zone d'ancrage de la protéine virale GP120 sur les lymphocytes T humains. Quand on met des cellules en culture en présence de cette toxine artificielle, cette dernière bloque les sites de fixation, et interdit toute liaison du VIH aux cellules humaines. Jusqu'à présent les tentatives d'inhibition de l'entrée du virus dans les cellules ont échoué, car le virus, extrêmement variable, se transforme et réussit à se fixer malgré les leurres. Cette nouvelle molécule, dont il reste à évaluer le potentiel *in vivo*, réussira peut-être là où d'autres ont échoué en raison de la parfaite similitude de sa structure avec celle de la boucle du récepteur CD4.

L'équipe de Châtenay-Malabry, pour sa part, s'est intéressée à l'intégrase virale, une enzyme qui intervient au cours de l'insertion de l'ADN proviral dans l'ADN cellulaire (une fois le génome viral intégré, il profite de la machinerie cellulaire pour produire des protéines virales et de nouveaux



Pour éviter soit l'infection des lymphocytes T par le VIH, soit la réplication du virus, on essaye de mettre au point des substances qui attaquent le virus en divers points stratégiques. On a isolé du venin de scorpion une molécule (a, en rouge) dont la structure ressemble beaucoup à celle de la boucle du récepteur CD4 sur laquelle s'ancore la protéine virale GP120. Cette molécule bloque le site de reconnaissance et devrait empêcher l'interaction du virus et de sa cellule cible. L'enzyme intégrase sert à l'intégration du génome viral dans le génome cellulaire ; en bloquant le site actif de cette enzyme par des styrylquinolines (b, en violet), on l'empêche d'agir et on évite cette intégration. Enfin, l'enzyme protéase apprête les protéines virales synthétisées par la machinerie cellulaire pour former de nouvelles particules virales : en évitant la formation de son site actif, grâce à un inhibiteur de la dimérisation (c, en violet), on évite la libération de nouvelles particules virales.