



Le but de SIDABLOG est d'exposer, par des lettres d'informations bimensuelles, les résultats de travaux scientifiques publiés récemment dans les revues internationales les plus importantes.

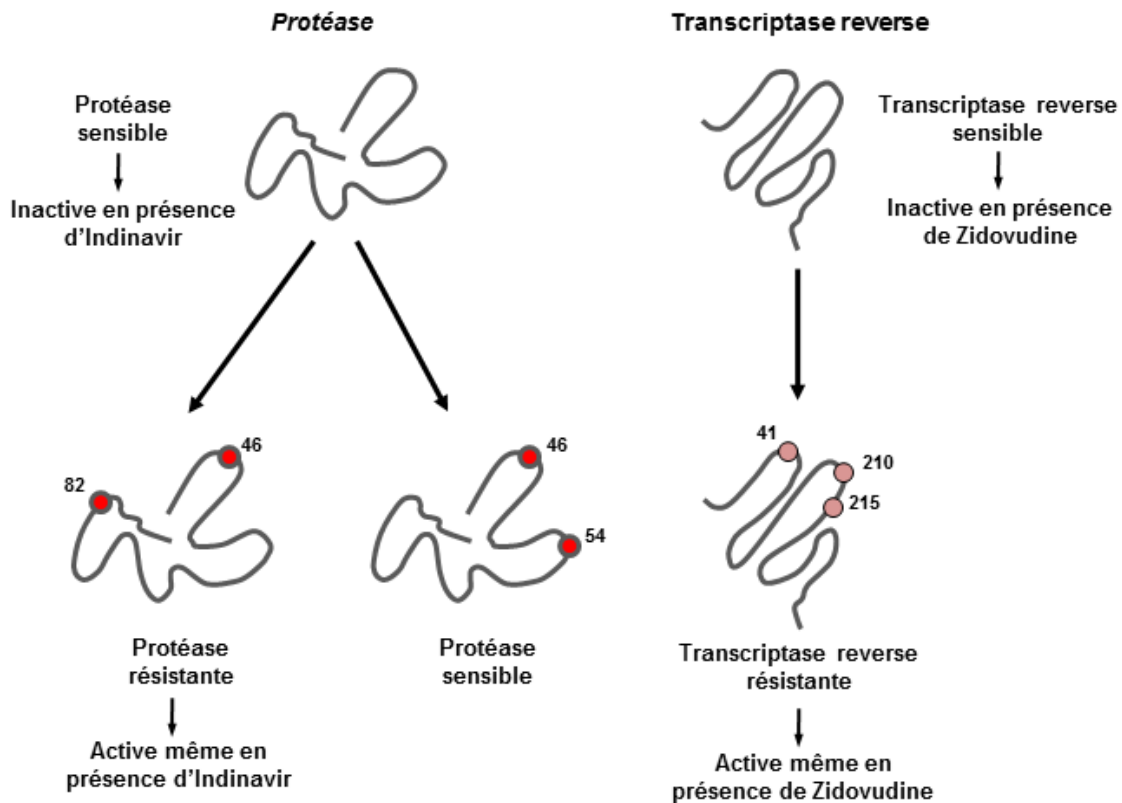
Revue d'articles scientifiques

IV.6 Comment les mutations coopèrent pour résister au VIH

Chez les patients sous traitement, les formes virales persistantes présentent des mutations des protéines virales qui perturbent l'action des médicaments sans pour autant affecter la survie du virus. C'est l'un des principaux obstacles aux traitements. Ces mutations semblent concerner essentiellement deux enzymes virales indispensables à la reproduction du virus : la Protéase et la transcriptase reverse. Jusqu'à présent, plusieurs méthodes ont été élaborées afin de déduire les niveaux de résistance en fonction du génotype viral. Cependant, celles-ci restaient limitées et souvent difficiles à interpréter. Des chercheurs viennent toutefois d'élaborer une nouvelle méthode.

Ils se sont penchés sur les interactions entre des mutations de résistance du VIH en utilisant des techniques de dynamique moléculaire. Celle-ci consiste à déterminer les bases moléculaires des interactions entre mutations. Ces dernières bloquent la fixation des drogues à leur cible virale et ainsi leurs effets antiviraux.

Leur modèle a été testé sur 3 antiviraux : un inhibiteur de Protéase (Indinavir), un inhibiteur de la Transcriptase reverse nucléosidique (Zidovudine) et un inhibiteur de la Transcriptase reverse non nucléosidique (Néviparine). Ils montrent alors que les mutations des acides aminés 46, 54 et 82 de la Protéase modulent, directement et de façon coopérative, l'effet de l'Indinavir.



Plus précisément, les simples associations entre ces mutations ont des effets différents : par exemple, la mutation 54 inhibe la résistance causée par la mutation en position 46 et la mutation 46 amplifie la résistance engendrée par la mutation en position 82. Pour la Zidovudine, les chercheurs ont montré que plusieurs mutations arrivent ensemble, celles des positions 41, 210, 215, et qui permettent la réactivation de la Transcriptase reverse. En revanche, ils n'ont détecté aucune interaction modulant la résistance à la Néviparine.

Les simulations par dynamisme moléculaire permettent donc de mieux comprendre les modifications virales et les résistances aux drogues. Bien que cette étude doit être approfondie, les auteurs proposent de transposer cette approche pour analyser la résistance aux médicaments d'autres maladies infectieuses.

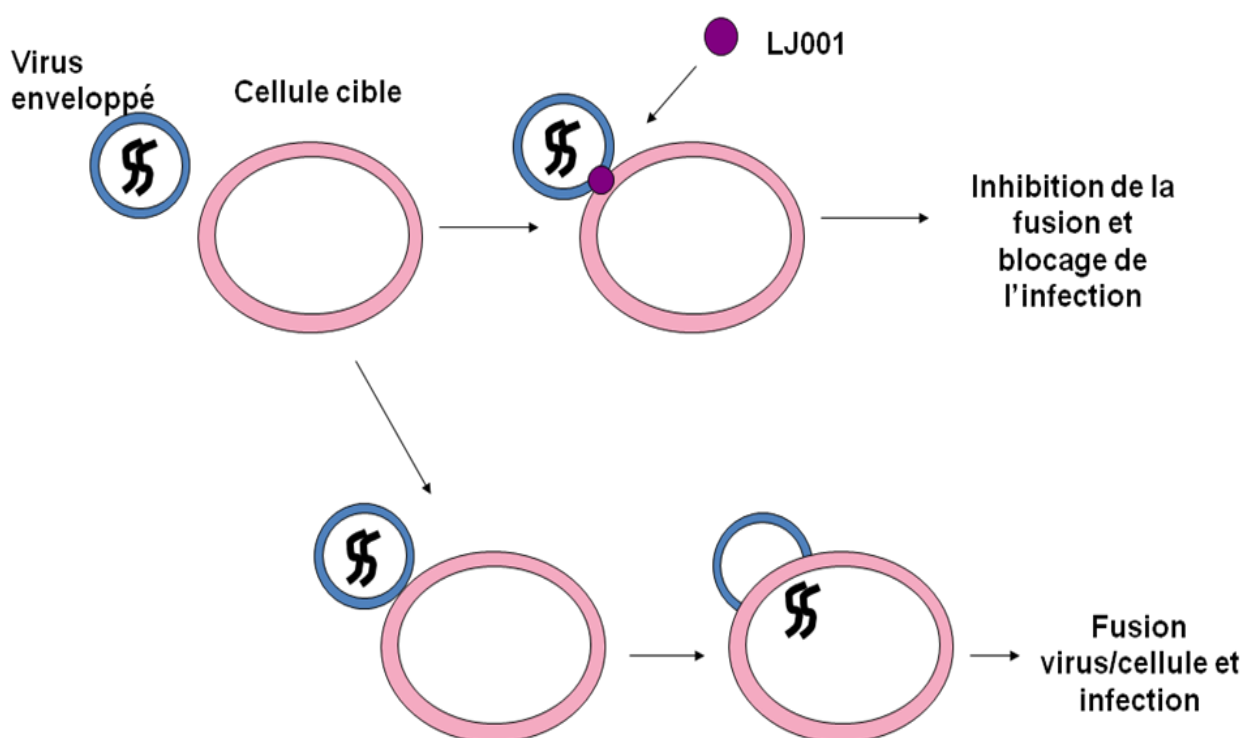
Detecting and understanding combinatorial mutation patterns responsible for HIV drug resistance. Zhang J, Hou T, Wang W, Liu JS. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jan 26;107(4):1321-6.

Un antiviral ciblant des caractéristiques communes des virus : vers un nouvel espoir ?

Un antiviral parfait doit répondre à plusieurs caractéristiques : être efficace contre le virus, ne pas engendrer d'effet secondaire chez les patients et accessible à tous. Plus encore, il devrait pouvoir s'attaquer à plusieurs classes de virus. Une molécule antivirale est à ce titre prometteuse.

Les virus peuvent en effet se classer en deux grandes catégories : les virus enveloppés et les virus non-enveloppés, suivant qu'ils sont englobés dans une membrane provenant de la cellule dans laquelle ils se multiplient. Plusieurs études ont déjà montré que certaines molécules (les lysophosphotidylcholines) pouvaient s'intercaler au niveau des lipides des membranes, qu'elles soient virales ou cellulaires.

Les lésions membranaires que ces molécules engendrent peuvent être réparées rapidement par les cellules. Ces dernières ne sont donc pas inquiétées. En revanche, celles des enveloppes virales sont irrémédiablement abîmées. Ces nouvelles molécules pourraient être alors des antiviraux efficaces contre une large variété de virus.



Des chercheurs américains ont alors étudié un composé de ce type. Ils ont ainsi montré qu'une petite molécule, LJ001, se fixe aux membranes lipidiques, inhibant le processus de « fusion cellulaire » et empêchant ainsi différents virus enveloppés (VIH, Ebola, VSV...) de pénétrer dans les cellules. Ces perturbations de la membrane virale peuvent affecter la fluidité ou la rigidité de l'enveloppe. Elles mettent en péril sa capacité de subir des modifications nécessaires pour permettre cette première étape du cycle de réplication virale. Leurs travaux ont confirmé que les membranes cellulaires peuvent se réparer d'elles-mêmes et surmonter les effets toxiques de cette molécule à la différence des membranes virales. De plus, cette molécule semblerait limiter la capacité des virus à développer une résistance puisque qu'elle agit sur un composant d'origine cellulaire. *In vivo*, ils ont enfin montré que LJ001 disparaît très rapidement dans le sang. C'est pourquoi des études supplémentaires seront nécessaires pour lui assurer une plus grande stabilité dans l'organisme.

La molécule LJ001 semble ainsi empêcher l'entrée du virus dans la cellule hôte après son attachement à la membrane, sans avoir d'effet sur le système cellulaire. Cet inhibiteur est donc particulièrement prometteur pour l'ensemble des recherches sur les infections virales.

A broad-spectrum antiviral targeting entry of enveloped viruses. Wolf MC, Freiberg AN, Zhang T, Akyol-Ataman Z, Grock A, Hong PW, Li J, Watson NF, Fang AQ, Aguilar HC, Porotto M, Honko AN, Damoiseaux R, Miller JP, Woodson SE, Chantasirivisal S, Fontanes V, Negrete OA, Krogstad P, Dasgupta A, Moscona A, Hensley LE, Whelan SP, Faull KF, Holbrook MR, Jung ME, Lee B. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2010 Feb 16;107(7):3157-62.

Profiter d'une faiblesse du VIH ?

Le VIH possède 9 protéines aux fonctions bien caractérisées mais son génome peut produire également de nombreux petits éléments protéiques si l'on perturbe la lecture de son ADN. Deux études récentes viennent de montrer que ces protéines entraîneraient paradoxalement une réponse immunitaire contre le virus.

La machinerie cellulaire reconnaît en effet trois éléments consécutifs de l'ARN viral pour les traduire en un seul composant de la protéine. Dans ce génome où les codages se superposent partiellement, un décalage d'un ou de deux éléments constitutifs de l'ARN conduit finalement à une protéine virale totalement différente (**voir figure**). On connaît différents processus directement impliqués dans le changement du cadre de lecture et conduisant à l'expression de ces protéines « anormales ». De surcroît, le VIH produit en plus de son ARN principal un ARN dit « antisens » qui lui-même conduit à ces protéines.

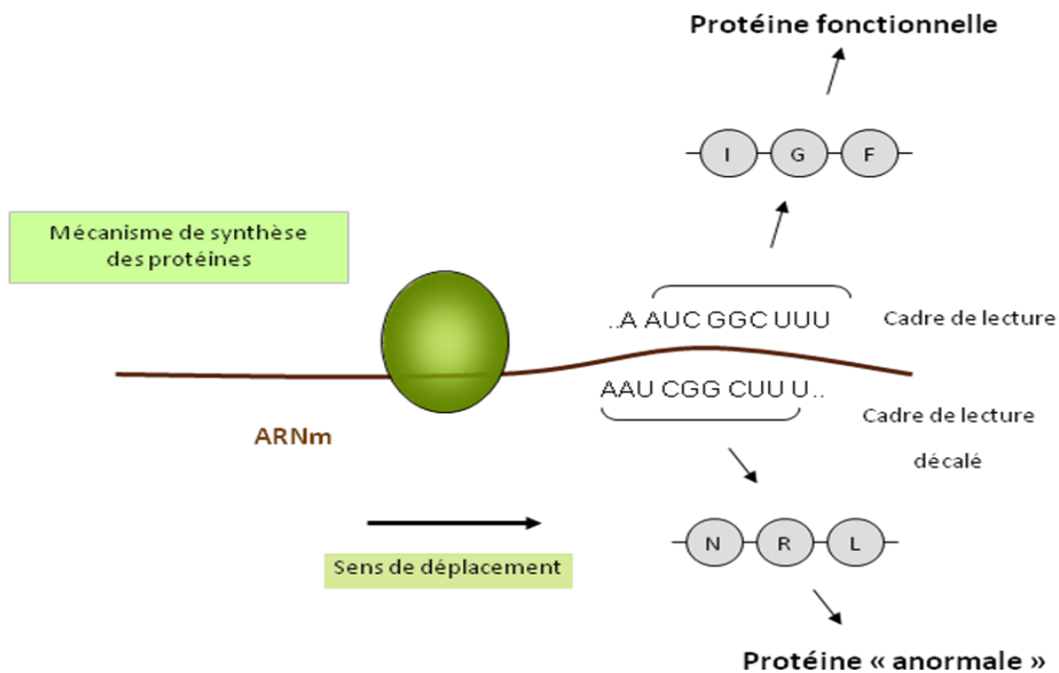
Deux équipes de chercheurs viennent de montrer que ces protéines sont reconnues par le système immunitaire. Une première équipe dirigée par le Pr Goepfert de l'université d'Alabama s'est intéressée aux cellules cytotoxiques de la réaction immunitaire antivirale déclenchée par le VIH chez des patients sud africains. Cette réponse dirigée contre les cellules infectées est déclenchée par des cellules ayant été au contact avec le virus, notamment les lymphocytes infectés, les cellules dendritiques ou les macrophages ayant phagocyté le VIH. Celles-ci présentent des morceaux du virus aux cellules cytotoxiques qui, ainsi activées, combattent les cellules infectées.

Ils montrent alors que les morceaux de protéines ou épitopes issues de l'ARN antisens (55%) sont très fréquemment les cibles des cellules cytotoxiques. Ces épitopes seraient donc produits dans des cellules infectées, déclenchant ainsi la réaction immunitaire.

Une seconde équipe dirigée par le Pr Brander de l'institut Ragon de Boston a étudié une cohorte de 765 patients non traités. Ils ont dans un premier temps identifié 64 épitopes du VIH issus d'un décalage du cadre de lecture. Ensuite ils ont testé les réponses contre ces 20 épitopes situés dans les séquences des gènes pol, gag et nef et révèlent une réponse cytotoxique pour 10 de ces épitopes. Ils ont également découvert que les réactions immunitaires contre ces épitopes sont plus faibles que celles déclenchées par les protéines régulatrices du VIH. Elles peuvent malgré tout moduler la reproduction du virus.

Par ailleurs, ils démontrent que la pression immunitaire exercée sur ces épitopes peut guider l'évolution du virus au sein d'une population. En effet, certaines mutations peuvent ne pas modifier la séquence d'une protéine fonctionnelle mais modifier la réponse immunitaire.

Ces études montrent que le VIH doit s'adapter à la réponse immunitaire développée contre ces épitopes, ce qui pourrait avoir des implications dans le développement de futurs vaccins.



CD8 T cell response and evolutionary pressure to HIV-1 cryptic epitopes derived from antisense transcription. Bansal A, Carlson J, Yan J, Akinsiku OT, Schaefer M, Sabbaj S, Bet A, Levy DN, Heath S, Tang J, Kaslow RA, Walker BD, Ndung'u T, Goulder PJ, Heckerman D, Hunter E, Goepfert PA. *J Exp Med.* 2010 Jan 18;207(1):51-9, S1-3. Epub 2010 Jan 11.

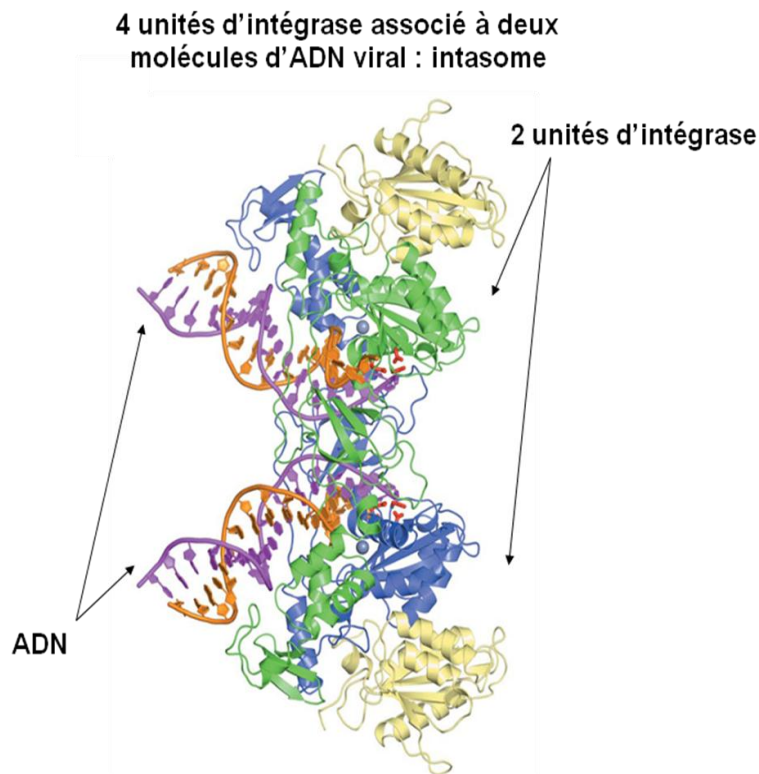
La structure de l'intégrase enfin déterminée

L'intégration du génome viral dans celui de la cellule cible est une étape essentielle de la réplication du VIH. Elle nécessite la protéine virale intégrase qui constitue donc une cible de choix contre le virus. Néanmoins, la recherche d'inhibiteurs de l'intégrase est difficile car on connaît mal cette enzyme. On ne connaît que quelques molécules efficaces. Une étape importante vient toutefois d'être franchie : on vient pour la première fois de déterminer la structure cristallographique d'une intégrase proche de celle du VIH.

Bien que cette protéine soit au cœur des développements de nouvelles drogues et de nombreuses études, sa structure en tant que protéine seule ou associée avec l'ADN viral, ou intasome, restait encore mal connue. De même, l'organisation de son site actif, qui acquiert sans doute un état fonctionnel une fois l'ADN fixé, est mal connue.

A partir de cristaux diffractés de l'intégrase du virus foamy, proche de celle du VIH, des chercheurs ont déterminé la structure de l'intasome. Ils ont déterminé dans un premier temps sa structure : celui-ci est composé de deux complexes identiques. Chacun d'entre eux est composé de deux unités associées à une molécule d'ADN viral. Ils ont montré ensuite que les deux parties actives de l'intégrase contiennent deux ions métalliques nécessaires à la fixation des molécules d'ADN viral. Ces dernières semblent être encastrées profondément entre les deux parties de l'intégrase. Ils ont enfin montré que les inhibiteurs de l'intégrase, comme le raltégravir ou l'elvitégravir, entraînent un déplacement de la molécule d'ADN du site actif et donc l'inactivation de l'enzyme.

Ces résultats s'appuient sur les caractéristiques communes entre l'intégrase du virus foamy et celles du VIH. Elles pourront sans doute permettre le développement de nouvelles drogues inhibitrices de l'insertion de l'ADN au sein de l'intégrase.



Retroviral intasome assembly and inhibition of DNA strand transfer. Hare S, Gupta SS, Valkov E, Engelman A, Cherepanov P. *Nature*. 2010 Jan 31.