



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

Revue d'articles scientifiques

Co-infection VIH et tuberculose : quand commencer le traitement antirétroviral ?

En 2007, 33 millions de personnes sont infectées par le VIH-1 et 9,2 millions de personnes sont porteuses du bacille de la tuberculose. Le SIDA et la tuberculose sont étroitement liés et le nombre de personnes co-infectées ne cesse de croître. En Afrique du Sud, plus des 2 tiers des tuberculeux sont porteurs du VIH. On vient de déterminer le meilleur moment pour démarrer la thérapie antirétrovirale chez ces patients co-infectés.

Les personnes infectées par le VIH présentent des risques plus importants de développement de maladies opportunistes, étant donné la faiblesse du système immunitaire. La tuberculose reste la maladie opportuniste la plus représentée et cause la plupart des décès des patients infectés par le VIH dans les pays en voie de développement.

On avait jusqu'alors du mal à déterminer le meilleur moment pour démarrer la thérapie antirétrovirale chez ces patients co-infectés. Alors que l'OMS préconisait de réaliser des traitements en parallèle (antirétroviraux et chimiothérapies antituberculeuses), dans les faits, le début de la thérapie antirétrovirale est souvent retardé à la fin du traitement antituberculeux pour éviter les interactions possibles.

Récemment, des chercheurs sud-africains ont réalisé une étude dans le but de déterminer la période optimale pour amorcer la thérapie antirétrovirale chez 642 patients de Durban co-infectés par le VIH et traités pour la tuberculose. Ils ont alors constitué deux groupes recevant la thérapie antirétrovirale, soit durant le traitement contre la tuberculose, ou soit après celui-ci. Ils ont alors montré que commencer la thérapie antirétrovirale en même temps que la thérapie antituberculeuse diminue la mortalité d'environ 56% (5,4 % de morts par an pour les patients recevant le traitement antirétroviral en même temps que le traitement antituberculeux, contre 12,1% pour ceux qui ont reçu les antirétroviraux après la fin du traitement antituberculeux). De surcroît, de nombreux patients sont morts dans le deuxième groupe entre les deux traitements.

Enfin, les chercheurs montrent qu'à l'issue de cette double thérapie, des effets secondaires apparaissent : ils sont importants mais pas mortels.

Ces données devraient renforcer les directives actuelles de l'OMS qui recommandent de combiner le traitement antituberculeux et le traitement antirétroviral chez les patients co-infectés.

Timing of initiation of antiretroviral drugs during tuberculosis therapy. Abdool Karim SS, Naidoo K, Grobler A, Padayatchi N, Baxter C, Gray A, Gengiah T, Nair G, Bamber S, Singh A, Khan M, Pienaar J, El-Sadr W, Friedland G, Abdool Karim Q. **N Engl J Med.** 2010 Feb 25;362(8):697-706.

Les microbicides : un nouvel espoir ?

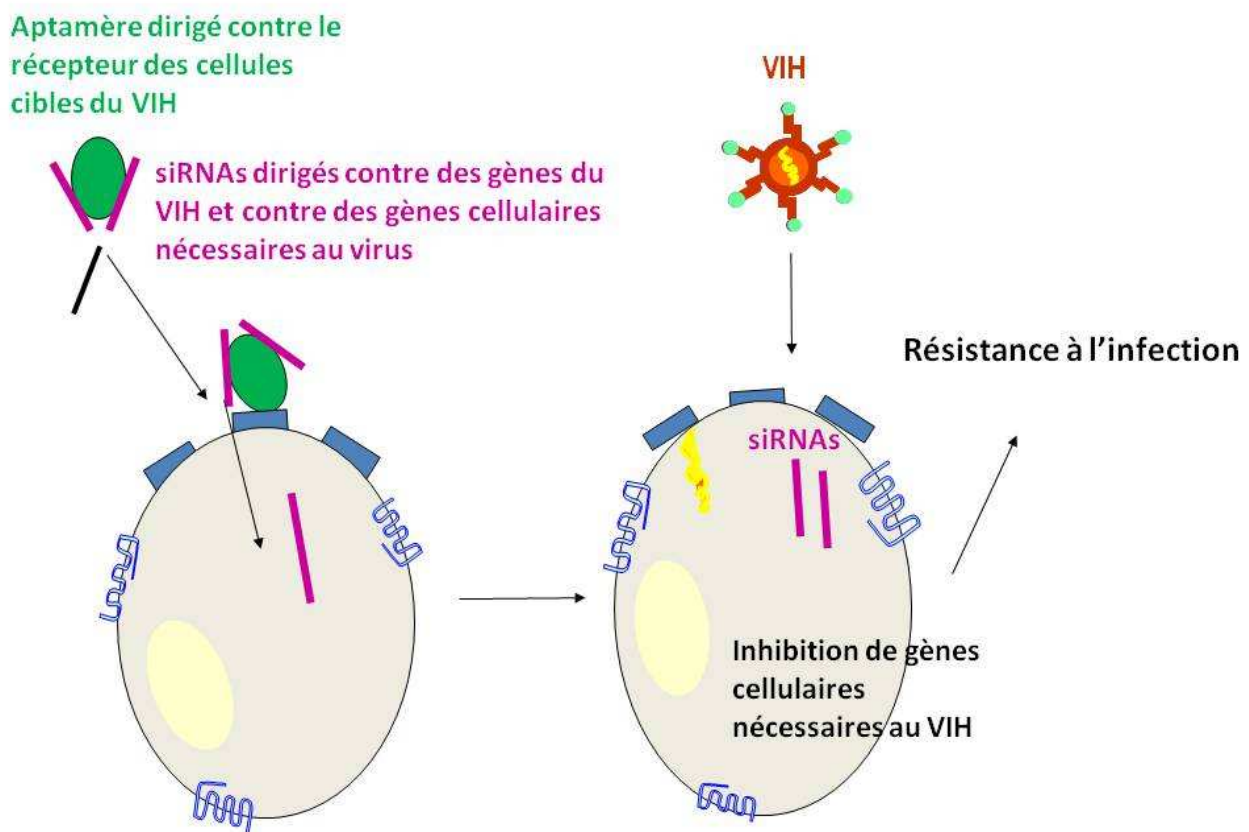
Les microbicides sont des composés se présentant sous forme de gels, crèmes, films ou suppositoires pouvant être appliqués dans le vagin ou le rectum comme protection contre les maladies sexuellement transmissibles, notamment le VIH. Ceux qui ont jusqu'alors été testés n'ont révélé aucun effet significatif. Cependant, selon la grande immunologiste Judy Lieberman, la faiblesse de ces microbicides serait certainement due à une mauvaise orientation des recherches.

Les équipes de Mme Lieberman ont travaillé sur une technique alliant des siRNAs (qui fixent les ARNs codant pour les protéines du VIH et entraînent leur destruction) et une classe d'ARN synthétiques appelés aptamères (qui fixent les protéines à la surface des cellules). En effet, les siRNAs sont instables dans le système sanguin ; ainsi, en les attachant aux aptamères, on peut les stabiliser et les diriger sur leurs cibles.

En effet, les aptamères ont une structure tridimensionnelle en forme de croix leur permettant de fixer fortement leur protéine cible. Cela leur confère souvent des affinités plus importantes pour les protéines que celles des anticorps respectifs. On les produit à l'aide d'un mélange de courtes séquences d'ARNs aléatoires, exposées aux protéines cibles pour identifier les meilleures. Ces molécules ainsi détectées ont besoin de quelques modifications chimiques pour être plus stables. Ces petites molécules alimentent de grands espoirs pour les approches thérapeutiques car elles sont plus efficaces et plus facilement synthétisées que les anticorps.

Ainsi la combinaison des aptamères aux siRNAs semble intéressante pour inhiber n'importe quel gène (*via* le siRNA) dans n'importe quelle cellule (*via* l'aptamère). L'équipe de J. Rossi (Beckman Research Institute of City of Hope, Duarte, USA) et de R. Akkina (Department of Microbiology, Immunology, and Pathology, Colorado State University, USA) ont alors utilisé cette technique avec un aptamère dirigé contre une molécule présente sur les cellules infectées par le VIH, gp120, et un siRNA tuant le virus. Ces études étendues à un modèle *in vivo* de souris ont également montré une diminution de la charge virale. L'équipe de Lieberman a eu l'idée d'utiliser cette technique, non pas de manière curative, mais préventive : cibler les cellules T *via* un aptamère dirigé contre les récepteurs du VIH, associés à deux types de siRNAs. L'un permet d'inhiber les gènes viraux, l'autre réprime les gènes de la cellule hôte nécessaires au développement du virus. Lorsque le virus arrive sur ces cellules traitées, il est alors bloqué.

Judy Lieberman espère ainsi pouvoir démarrer des essais sur des animaux. Si les résultats sont concluants, un tel microbicide pourrait révolutionner la lutte contre le SIDA. Mais il faut encore que les entreprises de biotechnologies réticentes soutiennent le développement d'un tel produit.



Repérer les types de virus chez les patients traités.

La thérapie antirétrovirale hautement active (HAART), est une combinaison de 3 à 4 drogues. La plupart des patients infectés par le VIH venant de pays occidentaux, ayant bénéficié de ce traitement, présentent désormais des charges virales indétectables. Les virus sont latents dans certaines cellules mais peuvent se propager en fin de traitement. On vient de déterminer le tropisme de ces virus « dormants », c'est-à-dire quels récepteurs, CCR5 ou CXCR4, peuvent-ils utiliser pour infecter les cellules ?

Les patients en bonne santé doivent malgré tout rester sous traitement tout au long de leur vie. Il est ainsi essentiel de développer de nouvelles classes d'antirétroviraux adaptés à ces types de patients, médicaments qui seraient moins toxiques et présenteraient moins d'effets secondaires, comme par exemple les anti-intégrases ou les inhibiteurs de CCR5 (corécepteurs du VIH lors de sa pénétration dans la cellule hôte). Cependant, pour utiliser les inhibiteurs de corécepteurs, il est impératif de connaître le tropisme du virus présent chez les patients infectés : certains virus (R5) ne peuvent utiliser que CCR5, d'autres (X4) seulement CXCR4 et les derniers (R5X4) utilisent les deux corécepteurs.

Des chercheurs de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière se sont penchés sur l'analyse des séquences d'ADN de la boucle V3 des virus (voir lettre SIDABLOG n°25) pour déterminer les tropismes viraux d'une cohorte de 200 patients traités. Ces patients n'ont jamais reçu d'antagonistes de CCR5 et montrent une charge virale plasmatique indétectable.

Seuls 140 échantillons ont été analysés avec succès et on observe que 69% sont de tropisme R5 et 31% de tropismes R5X4 ou X4. Les seules corrélations qu'ils mettent en avant sont celles du tropisme avec le nadir (nombre de lymphocytes T CD4+ le plus bas atteint) et avec le nombre actuel de lymphocytes T CD4+ (LTCD4+). En effet le nadir était de 108 cellules/mm³ pour les tropismes R5X4 ou X4 contre 193 cellules/mm³ pour le tropisme R5. Aujourd'hui, les patients infectés par le X4 ou R5X4 ont un taux de LTCD4+ de 429 cellules/mm³ alors que pour les autres, il est de 540 cellules/mm³.

Ainsi, comme lors d'études précédentes, la plupart des virus des patients en succès virologique sont de type R5 (70%), ce qui reflète assez bien le rôle majeur joué par CCR5 lors de l'infection. Cette étude montre aussi qu'il est important de déterminer le tropisme viral avant tout début de traitement par des antagonistes de CCR5, même chez les patients dont le nombre de LTCD4+ est supérieur à 350 cellules/mm³.

Factors associated with proviral DNA HIV-1 tropism in antiretroviral therapy-treated patients with fully suppressed plasma HIV viral load: implications for the clinical use of CCR5 antagonists. Soulié C, Fourati S, Lambert-Niclot S, Malet I, Wirten M, Tubiana R, Valantin MA, Katlama C, Calvez V, Marcelin AG. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Apr;65(4):749-51.

Une avancée technique pour mieux étudier l'infection

Voilà désormais 25 ans que le virus responsable du SIDA et les chercheurs se mobilisent toujours pour combattre ce fléau. Une nouvelle technique de laboratoire permet aujourd'hui de synchroniser l'infection des cellules cibles et de réaliser des études cinétiques extrêmement précises.

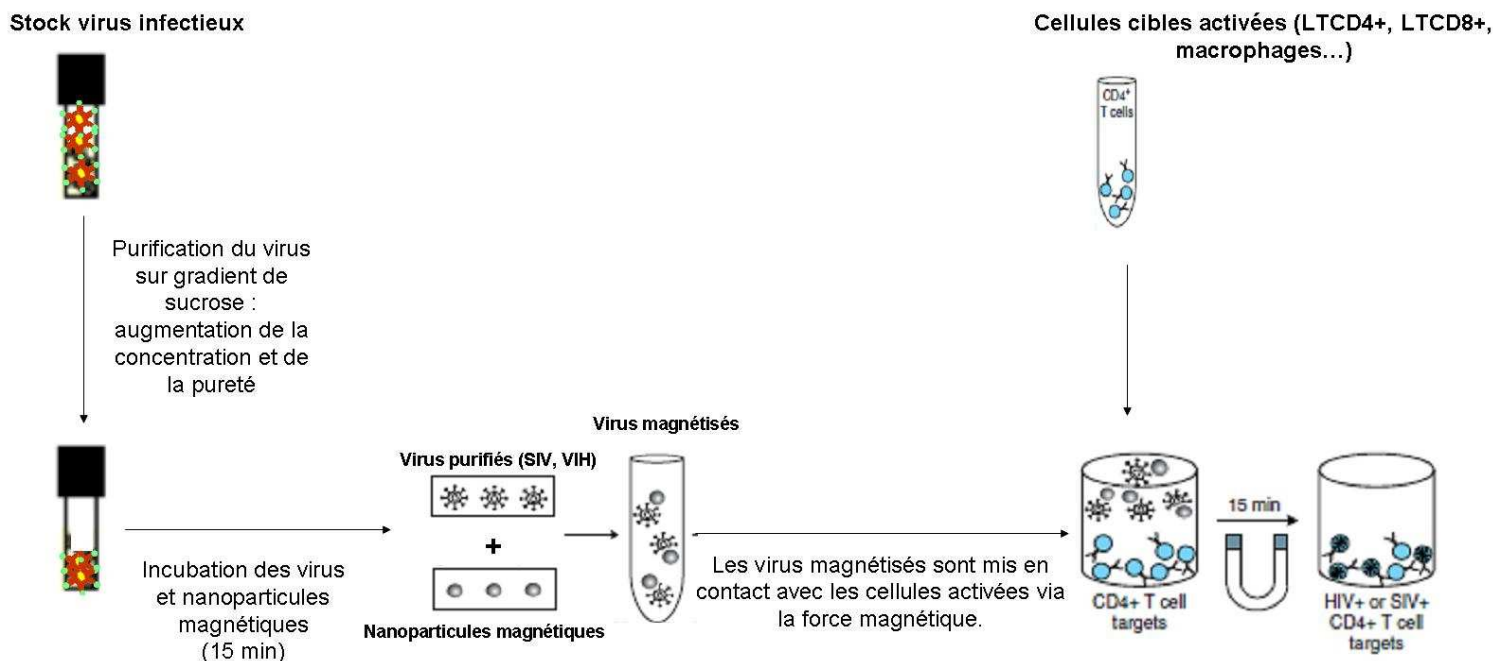
Il est essentiel de comprendre parfaitement l'ensemble des différentes étapes du cycle viral et les interactions avec les défenses immunitaires mises en place par l'organisme. Pour ce faire, le développement de nouvelles techniques de pointe est une étape cruciale.

Lors des études *in vitro* sur l'infection, l'incubation des cellules et du virus n'aboutit qu'à un très faible pourcentage de cellules infectées. En effet, la reconnaissance entre l'enveloppe virale et les récepteurs cellulaires est limitée et réduit considérablement l'efficacité de l'infection. Ainsi, plusieurs méthodes ont été mises au point dans le but d'accroître ce pourcentage. Les deux principales sont la magnétofection et la spinoculation qui permettent une augmentation identique du nombre de cellules infectées. En revanche, la spinoculation se réalise sur un temps long (2h de centrifugation puis incubation à 37°C) pouvant ainsi endommager les cellules et les virus, alors que la magnétofection est très rapide (1 minute).

Des chercheurs de l'Université du Wisconsin se sont intéressés à la magnétofection. Cette technique utilise la force magnétique pour permettre une infection *in vitro* synchronisée des cellules cibles. Les virus (VIH ou VIS) sont, dans un premier temps, rendus magnétiquement actifs (associations électrostatiques entre la protéine d'enveloppe et des nanoparticules cationiques ferreuses). Ensuite, grâce à un champ magnétique ces virus sont dirigés vers la surface des cellules cibles. On a ainsi réduit l'étape d'interaction entre les virus et les cellules : on les aide ainsi à se rencontrer. On a alors une synchronisation de l'infection à l'étape de fixation du virus à la cellule.

Cette technique présente malgré tout quelques inconvénients : En effet, il persiste toujours de faibles quantités de nanoparticules magnétiques après l'infection qui peuvent perturber l'expérience. De plus, il est nécessaire de faire attention aux concentrations de virus utilisés car il peut se produire une surinfection des cellules.

Néanmoins, cette technique a déjà permis bon nombre de résultats intéressants : on connaît maintenant le temps exact nécessaire pour que les épitopes viraux soient reconnus par les cellules T cytotoxiques. On peut décrire aujourd'hui précisément la dynamique conformationnelle de la protéine d'enveloppe du VIH. On connaît plus précisément l'efficacité de certains anticorps neutralisants...



Synchronous infection of SIV and HIV in vitro for virology, immunology and vaccine-related studies.
Sacha JB, Watkins DI. *Nat Protoc.* 2010;5(2):239-46.

Combiner les vecteurs de vaccination pour les rendre plus efficaces.

L'amélioration de l'efficacité des vaccins contre des pathogènes comme le VIH reste le défi majeur de ces dernières décennies. La stimulation séparée de différents composants de la réponse immunitaire apparaît de ce point de vue plus efficace, grâce à l'utilisation de différents vecteurs de vaccination.

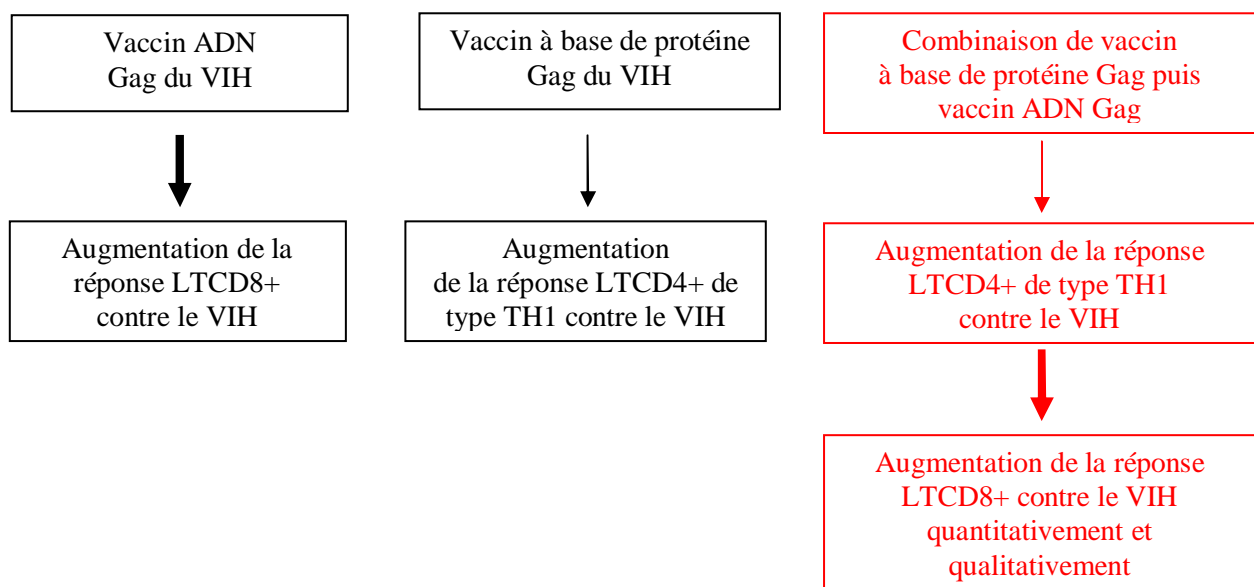
La stratégie vaccinale « heterologous prime-boost » consiste à faire des immunisations répétées avec différents vecteurs exprimant la même partie du pathogène ou antigène, pour stimuler une forte réponse immunitaire. Cette stratégie vaccinale ne nécessite pas plusieurs injections du même vecteur. Les risques de développer une immunité contre le vecteur sont donc réduits.

Il y a quelques années, des chercheurs allemands avaient montré qu'un vaccin à base de protéine (Gag du VIH) était plus efficace lorsqu'il ciblait directement les cellules dendritiques (DCs). Ce sont les cellules principales permettant de stimuler une réponse contre un antigène. Toutefois, la réponse immunitaire était beaucoup moins forte et plus restreinte que celle induite par les vaccins à base de vecteurs ADN ou viraux. Ces derniers vaccins stimulent la réponse immunitaire CD8+ (cellules cytotoxiques ou LTCD8+) alors que le vaccin à base de la protéine Gag active les cellules CD4+ (LT CD4+).

Ces mêmes chercheurs développent aujourd'hui une nouvelle stratégie en combinant deux vaccins qui provoquent des réponses immunitaires différentes. Comme les LTCD4+ activent la réponse CD8+ *via* la sécrétion de facteurs solubles (voir lettre SIDABLOG n° 17), les chercheurs ont injecté à des souris un vaccin à base de protéine Gag qui active les LTCD4+, puis un vaccin ADN qui stimule la réponse LTCD8+ contre Gag. Dans ce cas, la réponse des LTCD8+ contre la protéine Gag devrait être plus forte car elle serait activée par les LTCD4+ stimulés dans un premier temps. Ils montrent en effet que l'utilisation de vaccin à base de protéine Gag a permis d'augmenter la protection par le vaccin ADN délivré ultérieurement. Cette protection nécessite donc à la fois les cellules LTCD4+ et LTCD8+.

Ils observent également que cette vaccination combinée conduit à l'accumulation plus rapide des LTCD8+ au site d'infection. La réponse CD8+ obtenue est donc aussi plus efficace que celle obtenue par une simple vaccination ADN. Pour finir, les chercheurs montrent que cette amélioration de la réponse des LTCD8+ nécessite le récepteur CD40 qui agit sur la maturation des DCs et donc sur l'activation des LTCD8+.

Ces résultats montrent donc que les LTCD4+ peuvent être activés par un vaccin « amorce », basé sur la protéine Gag, pour améliorer la réponse immunitaire LTCD8+ d'une vaccination ADN. Cette approche ne nécessite pas l'apport de vecteurs viraux. Elle est donc plus simple et moins coûteuse.



Dendritic cell targeted HIV gag protein vaccine provides help to a DNA vaccine including mobilization of protective CD8+ T cells. Nchinda G, Amadu D, Trumpfheller C, Mizenina O, Uberla K, Steinman RM. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Mar 2;107(9):4281-6.