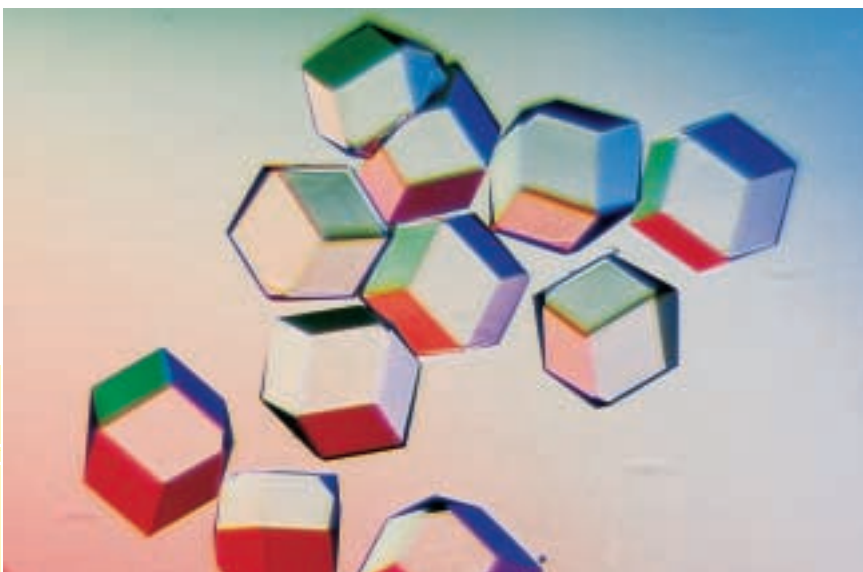




3. CES CRISTAUX DE NEURAMINIDASE ont été obtenus à partir d'un virus de la grippe qui avait infecté des oiseaux sauvages de la Grande Barrière de corail, en Australie. Grâce à ces cristaux de neuraminidase, les biologistes ont déterminé la structure tridimensionnelle de l'enzyme et fabriqué des médicaments qui en bloquent le site actif. Les différentes teintes correspondent à des réflexions de lumières colorées.

codent ces protéines. Certaines mutations ne modifient guère la stabilité des protéines ni leur activité. D'autres modifient tant les protéines produites qu'elles diminuent la viabilité des virus. D'autres encore rendent les virus plus redoutables, par exemple en reconfigurant un site qui était auparavant reconnu et inactivé par un anticorps.

Lorsque les gènes de l'hémagglutinine ou de la neuraminidase sont notablement modifiés, les protéines codées pour ces gènes échappent à la plupart des anticorps d'une population : une nouvelle épidémie se déclenche. Cette épidémie s'arrête lorsqu'elle atteint des groupes dont le système immunitaire a déjà rencontré la plupart de ces antigènes modifiés.

Les virus de type B semblent évoluer uniquement par glissement antigénique, se modifiant progressivement chez les personnes infectées. Au contraire, les virus de type A subissent des modifications plus marquées, des cassures antigéniques, qui, seules, peuvent déclencher des pandémies.

Lors d'une cassure antigénique, les souches portent des molécules d'hémagglutinine et une neuraminidase totalement nouvelles, que presque personne n'a rencontrées. Le virus échappe alors à la panoplie des anticorps portés par toutes les populations du globe et déclenche une pandémie. Aujourd'hui, les avions qui sillonnent le monde pourraient transporter un virus dangereux sur toute la Terre en quelques heures.

Une telle métamorphose ne résulte pas d'une simple mutation génétique. Le mécanisme de cassure antigénique le mieux étudié survient après le mélange de deux souches virales dans une cellule humaine : les gènes rassemblés dans les nouvelles particules virales (et les protéines correspondantes) proviennent en partie de la première des souches et en partie de la seconde. Ce réassortiment peut se produire parce que le génome du virus de la grippe est composé de huit brins d'ARN (chacun des brins codant une ou deux protéines). Ces brins se mélangent facilement et se réassemblent lorsque de nouvelles particules virales de type A se forment dans une cellule infectée par les deux souches virales. Ainsi, certains virus de la grippe infectent à la fois l'homme et le porc. Quand un porc est infecté par un virus humain et par une souche n'infectant généralement que les oiseaux, la souche hybride ressemble aux souches humaines, mais est, par exemple, pourvue aussi d'hémagglutinine d'oiseau.

On a récemment découvert que la cassure antigénique se produit aussi d'une autre façon, de sorte qu'un virus de grippe animal, qui n'avait pas encore réussi à infecter l'homme, devient pathogène. On ignore quelle cassure antigénique a provoqué la pandémie de grippe espagnole de 1918, due au sous-type H1N1 de type A, mais on a montré qu'un réassortiment a été à l'origine de la pandémie de grippe asiatique de

1957 (due à H2N2) et de celle de grippe de Hongkong de 1968 (due à H3N2). Des oiseaux aquatiques auraient apporté des gènes inhabituels, et le mélange des gènes aurait eu lieu dans des porcs infectés. Si les porcs sont effectivement impliqués dans l'apparition de nouvelles souches virales de la grippe, on comprendrait pourquoi les pandémies se déclarent souvent en Chine : des millions d'oiseaux, de porcs et de personnes vivent dans la promiscuité.

Le virus qui a tué six personnes à Hongkong en 1997 (H5N1) n'était pas issu d'un réassortiment. Il est passé directement des oiseaux à l'homme, ce que l'on n'avait jamais observé auparavant. En revanche, il ne se transmettait pas d'homme à homme. S'il avait eu le temps de devenir contagieux par mutation ou par réassortiment, il aurait certainement été responsable d'une grave pandémie.

L'alerte de 1997 a convaincu nombre de spécialistes de la santé publique que les services sanitaires doivent surveiller la grippe non seulement chez l'homme, mais aussi chez les animaux, y compris chez les oiseaux migrateurs : ceux-ci sont probablement des réservoirs de virus de type A, qui sont ensuite transmis aux oiseaux domestiques et à d'autres espèces. L'identification rapide de souches animales potentiellement dangereuses pour l'homme pourrait prévenir une catastrophe sanitaire à grande échelle.

L'incident de Hongkong a confirmé l'urgence des recherches sur ce que l'on nomme la barrière d'espèces, qui empêche de nombreuses souches virales de se transmettre d'une espèce animale à une autre. Si l'on en comprenait mieux la nature, les biologistes pourraient sans doute colmater les brèches qui permettent aujourd'hui à certaines souches animales de franchir cette barrière et d'infecter l'homme.

Une découverte fortuite

Les diverses études de la grippe ont montré, dès la fin des années 1970, qu'un médicament antigrippe ne serait efficace que s'il bloquait l'activité d'une des molécules indispensables à la multiplication du virus ; il devrait agir sur un site conservé de la molécule cible, c'est-à-dire sur un groupe d'acides aminés présents dans tous les types de souches du virus de la grippe. Un médicament qui aurait pour cible une région conservée, présente sur n'importe quel

virus, serait vraisemblablement actif contre tous les virus humains de la grippe, y compris ceux qui passent directement de l'animal à l'homme.

La mise au point des inhibiteurs de neuraminidase se fonde sur une découverte fortuite. Vers la fin des années 1970, l'un de nous (G. Laver) étudiait la molécule N2 du virus qui a provoqué la pandémie de grippe de Hongkong en 1968 (H3N2). Cette neuraminidase provenait-elle de la souche responsable de la pandémie de grippe asiatique de 1957 (H2N2)? Il voulait comparer les séquences d'acides aminés des deux molécules et, d'abord, isoler et concentrer les «têtes» des molécules de neuraminidase présentes à la surface des virus.

Après avoir isolé ces têtes à partir de virus purifiés et après les avoir concentrées par centrifugation, G. Laver constata avec surprise que le précipité obtenu n'était pas amorphe, comme les protéines le sont d'habitude, mais qu'il formait des cristaux. Or, les cristaux, qui sont des réseaux ordonnés de molécules, permettent l'analyse de la structure tridimensionnelle des grosses protéines!

En Australie, Peter Colman et ses collègues effectuèrent cette détermination en 1983 : les spicules des virus de la grippe sont constitués de quatre molécules identiques, ou monomères. Le tétramère résultant ressemble à un groupe de quatre ballons carrés disposés à l'extrémité d'une tige qui est fichée dans la membrane virale. Puis l'équipe de P. Colman découvrit bientôt que chacun des monomères de neuraminidase présente à sa surface un

profond sillon central. De surcroît, malgré les variations des molécules de neuraminidase, la même séquence d'acides aminés tapisse la paroi du sillon de tous les variants viraux connus, qu'il s'agisse des types A ou B.

Quand certaines régions d'une molécule sont ainsi invariantes, elles sont généralement indispensables à la fonction de la molécule. Dans le cas présent, le sillon semblait être le site actif de la neuraminidase, celui où l'acide sialique est clivé, et les acides aminés conservés du sillon paraissaient indispensables à la fonction catalytique. Cette hypothèse fut confirmée par la suite.

Comme les virus de la grippe ne se transmettent pas facilement d'une cellule à l'autre sans la neuraminidase, un médicament capable de bloquer le sillon devrait inhiber la neuraminidase de tous les virus de grippe.

L'obstruction du sillon

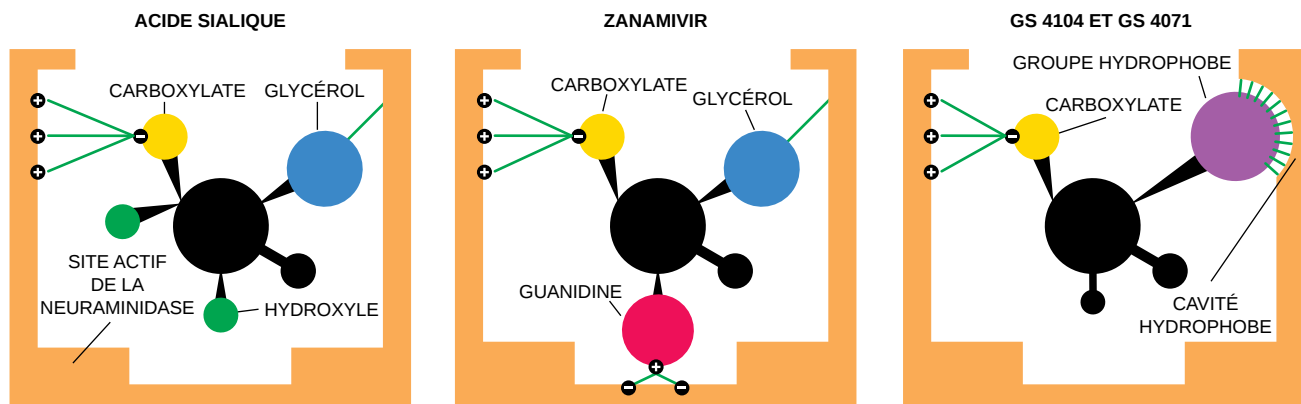
L'équipe de P. Colman identifia alors, dans le site actif, les acides aminés qui clivent l'acide sialique. Elle rechercha également les acides aminés qui, dans le sillon, ne se lient pas à l'acide sialique, mais où pourrait se fixer le futur médicament. Ainsi, ces biologistes identifièrent trois acides aminés chargés positivement, qui se liaient à un groupe chargé négativement (le groupe carboxylate COO^-) de l'acide sialique.

Ils repérèrent aussi, au fond du sillon, une petite cavité où apparaissaient deux acides aminés chargés négativement. Ces acides aminés (des groupes glutamate) n'établissaient

aucun contact avec l'acide sialique, mais ils étaient présents dans toutes les molécules de neuraminidase virale. Un groupe hydroxyle (OH) de l'acide sialique était orienté vers le bas, vers cette cavité, mais ne l'atteignait jamais.

En remplaçant ce groupe hydroxyle par un groupe plus gros et chargé positivement, obtiendrait-on une liaison forte? Un tel groupe positif semblait devoir se localiser dans la petite cavité, au fond du site actif, et s'y immobiliser, en se liant aux molécules de glutamate chargées négativement de la cavité.

En 1993, Mark von Itzstein et ses collègues de l'Université de Melbourne trouvèrent qu'en substituant un groupe guanidine (à la fois volumineux et chargé positivement) au groupe hydroxyle de l'acide sialique, ils obtenaient un puissant inhibiteur de la neuraminidase grippale. Comme cet inhibiteur agissait peu sur les enzymes voisines fabriquées par les bactéries et par les mammifères, on pouvait espérer qu'il ne perturberait pas les cellules humaines. Des études sur des animaux et des essais préliminaires chez l'homme montrèrent alors que la substance – le zanamivir – prévenait l'apparition des symptômes de la grippe chez des personnes infectées après l'administration du zanamivir et qu'elle atténuait les symptômes chez les personnes qui commençaient à se traiter après avoir été infectées. Toutefois, pour être efficace, ce produit ne devait pas être administré par voie buccale ; il devait être inhalé par le



4. DE NOUVEAUX MÉDICAMENTS bloquent le site actif de la neuraminidase en s'y liant plus que l'acide sialique. Quand un virus attaque une cellule, l'acide sialique (à gauche) est maintenu dans le site, un sillon, surtout grâce à ses groupes glycérol et carboxylate, qui forment des liaisons (traits verts) avec les acides aminés du site actif. Le zanamivir (au centre) se lie plus fortement au site actif grâce à d'autres liaisons : le groupe hydroxyle d'un dérivé de l'acide sialique est remplacé par un gros groupe

guanidine chargé positivement, qui se fixe solidement à deux acides aminés chargés négativement situés au fond du sillon. Le GS 4104 est converti en GS 4071 dans l'organisme. La molécule résultante (à droite) conserve les liaisons carboxylate établies par l'acide sialique, mais elle a aussi un groupe hydrophobe qui, dans le sillon de liaison, provoque la formation d'une cavité hydrophobe qui maintient le médicament en place par des forces attractives hydrophobes (les petits traits verts).

Bryan Christie, d'après P. Scott Rowland, Biocyst Pharmaceuticals, Inc.